UNIVERSITÉ PAUL SABATIER, TOULOUSE
U.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES
ANNÉE 1970 N° 52

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU GENRE MORAXELLA
ETUDE BACTERIOLOGIQUE
CONSTITUTION DES A.D.N.

THÈSE

pour le Doctorat en Pharmacie
Diplôme d'État

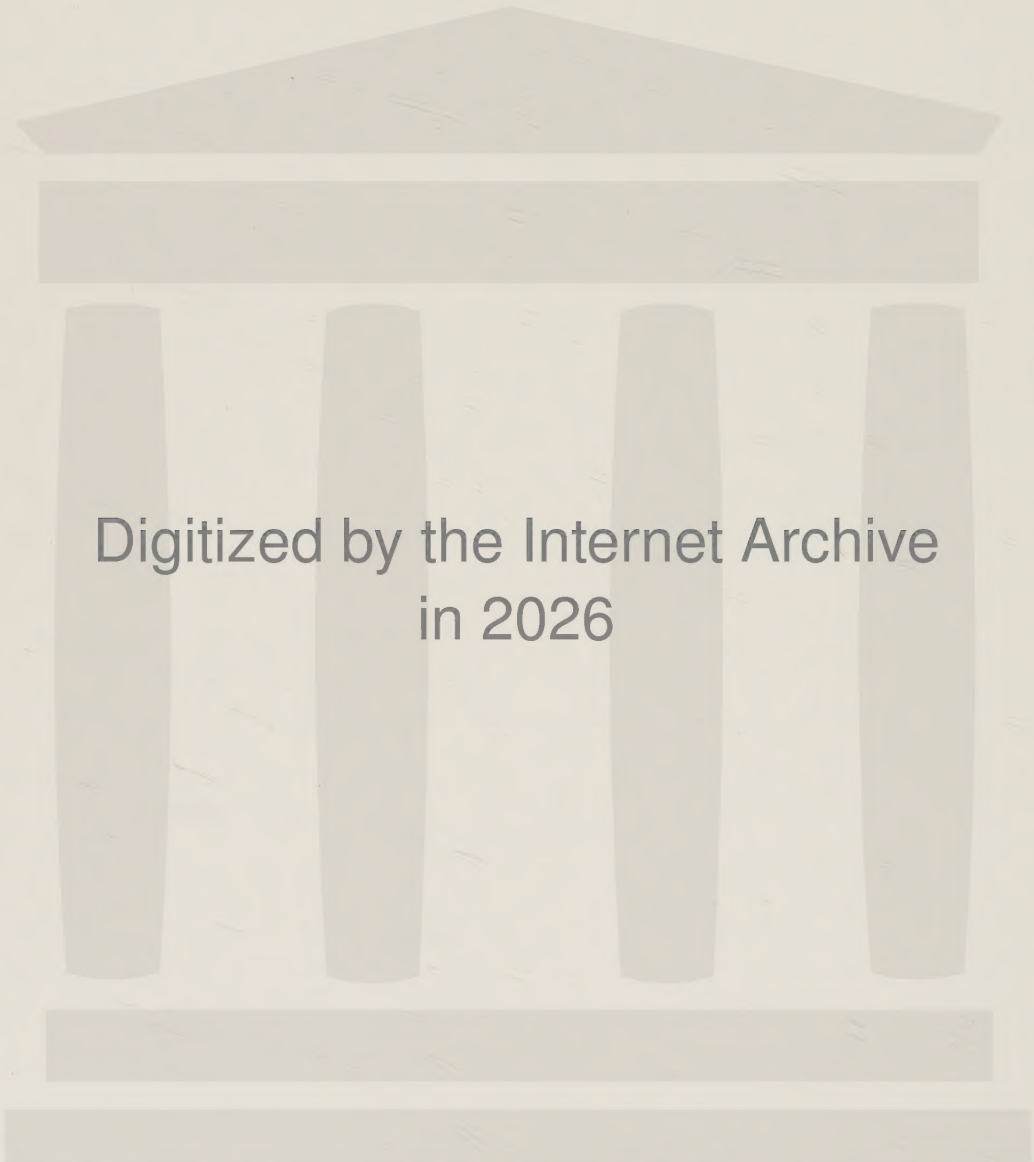
présentée et soutenue publiquement en septembre 1970

PAR

Monsieur Alain LEMOINE
PHARMACIEN
MAITRE-ASSISTANT STAGIAIRE DE MICROBIOLOGIE

Membres du Jury

MM. J. BREUILLAUD,	*Président*
G. ROUX G. SOULA G. MICHEL	*Assesseurs*
J.-C. DUMAS	*Suppléant*


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543906_0005

U N I V E R S I T E P A U L S A B A T I E R

UNITE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 1970 N°52

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU GENRE MORAXELLA

ETUDE BACTERIOLOGIQUE

CONSTITUTION DES A. D. N.

Thèse de Doctorat en Pharmacie
(Diplôme d'Etat)

Monsieur LEMOINE Alain
Pharmacien
Maître-Assistant Stagiaire

Membres du Jury :

MM. J. BREUILLAUD, Président
G. ROUX)
G. SOULA) Assesseurs
G. MICHEL)

J. C. DUMAS Suppléant

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE PAUL SABATIER
118, Route de Narbonne

31-TOULOUSE

TABLEAU DU PERSONNEL
de l'U.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Président de l'Université : Monsieur LARENG
1er Vice-Président : Monsieur MATHIS
Directeur de l'Unité : Monsieur BREUILLAUD
Doyens honoraires : Messieurs LAZORTHES, BRUSTIER
Professeurs honoraires : Messieurs DELAS, VINCENT, DULUCQ

- Botanique et Cryptogamie	MM.N.....
- Chimie analytique	PITET
- Toxicologie, Hygiène industrielle et Hydrologie	BOURBON
- Chimie pharmaceutique	BLANC
- Microbiologie	BREUILLAUD
- Pharmacie chimique et Pharmacodynamie	CAUJOLLE
- Pharmacie galénique et Matière Médicale	STANISLAS
- Physiologie, Zoologie et Parasitologie pharmaceutique	ROUX

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

- Pharmacie	MM. COUTURIER
- Sciences Naturelles	Mme CAUJOLLE
- Toxicologie	BROUSSY G.
- Zoologie	GAYREL

PROFESSEURS SANS CHAIRE

- Chimie organique	M. BERTRAND

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

- Botanique	Mme LASCOMBES
- Microbiologie	MM. MICHEL
- Pharmacodynamie	CROS
- Physiologie	DUMAS
- Pharmacie galénique	ROUFFIAC
- Chimie Biologique	SOULA
- Toxicologie	MALBOSC

Secrétaire Général de l'Université : Monsieur PRINEAU J.P.

L'Université déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.

oooOooo

AVANT-PROPOS

Nous voudrions exprimer notre respectueuse gratitude à notre jury de thèse et aux Maîtres dont nous avons reçu l'enseignement.

- A Monsieur le Professeur BREUILLAUD,
  Professeur de Microbiologie

Dès 1965, à la fin de nos études de Pharmacie, il a bien voulu nous accueillir comme assistant dans son laboratoire. Nous lui sommes reconnaissant de la bienveillante sollicitude qu'il nous a toujours manifestée, malgré les lourdes charges de ses fonctions et de ce qu'il a bien voulu mettre, avec simplicité et bonté, sa grande expérience à notre portée. Qu'il veuille bien trouver dans ce modeste travail le témoignage de notre profonde reconnaissance et de notre respectueux et fidèle attachement.

- A Monsieur le Professeur ROUX,
  Professeur de Physiologie, Zoologie, Parasitologie Pharmaceutique

Nous lui sommes reconnaissant de la précision et de la clarté de son enseignement et nous sommes très sensible aujourd'hui au grand honneur qu'il nous fait en acceptant de siéger à notre jury de thèse.

- A Monsieur le Professeur SOULA,
  Maître de Conférences, Agrégé de Chimie Biologique

Vous avez accepté de siéger dans notre jury de thèse et nous vous exprimons, notre vive reconnaissance.

- A Monsieur le Professeur MICHEL,
  Maître de Conférences, Agrégé de Microbiologie

Une grande part de notre reconnaissance s'adresse à vous, car votre sens de la recherche, votre rigueur scientifique, ainsi que votre cordiale sympathie nous ont été toujours d'un grand réconfort. Ce modeste travail est pour nous l'occasion de vous manifester notre gratitude et notre profond attachement.

- A Monsieur le Professeur DUMAS,
  Maître de Conférences, Agrégé de Physiologie

Vous avez accepté de faire partie de notre jury de thèse, nous vous remercions très respectueusement.

Nous associons dans une même pensée tous nos amis du laboratoire de Microbiologie.

Tout particulièrement, Monsieur GRIZOU, Maître-Assistant, qui nous a toujours apporté un concours précieux et amical ; ainsi que Madame ESTEVENON, Assistante et Mademoiselle MAUGEN, Assistante, pour son concours dévoué et efficace,

Madame MARVILLET
Monsieur NICOLAS et VIGIER, Aides Techniques, et
Madame TAUPIAC

ooOoo

A TOUS MES MAITRES DE LA FACULTE

DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

A TOUS LES MIENS

I N T R O D U C T I O N

Depuis la description en 1896, par MORAX, d'un diplobacille agent de Kerato conjonctivite, de nombreuses variétés ou espèces du genre Moraxella ont été successivement décrites. Bien que présentant des caractères morphologiques et culturaux communs elles peuvent être séparées, après les études de LWOFF et PIECHAUD en deux groupes oxydase positive et oxydase négative.

D'importants travaux ont été consacrés, au cours de ces dernières années, à l'étude bactériologique ainsi qu'à la taxinomie de ces germes ; citons particulièrement ceux d'AUDUREAU, BRISOU et PREVOT, COURTIEU, PIECHAUD... sans parler dans cette introduction des travaux des auteurs Anglo-saxons.

C'est qu'en effet de multiples observations ont démontré qu'en dehors de troubles oculaires, ces germes peuvent être doués d'un pouvoir pathogène important. Se comportant souvent comme des saprophytes les cavités naturelles de l'homme et des animaux et donc parfois présents dans le sol et dans les eaux, les Moraxella, comme de nombreuses autres espèces considérées jadis comme saprophytiques voient leur virulence augmenter par variation du terrain ou sélection microbienne sous antibiotiques.

Les manifestations pathologiques de ces germes de surinfection peuvent être très diverses : méningites purulentes primitives ou secondaires - septicemies - endocardites - pleurésies - pneumobronchopneumonies - abcès du poumon - sinusites - otites - angines - abcès du cerveau - infections genito urinaires - gastro entérites épidémiques.

.../...

Mais la nomenclature de ces microorganismes, leur position systématique, la définition des espèces sont encore très imprécises du fait, en particulier, des multiples synonymies qui se sont répandues dans la littérature et de la relative imprécision de nombreuses descriptions bactériologiques.

Il nous a donc paru intéressant d'étudier l'ensemble de ce groupe ; en nous fondant non seulement sur les caractères bactériologiques cardinaux mais aussi sur le GC % dont de multiples travaux, en particulier réalisés dans ce service en collaboration avec le Professeur PREVOT, ont montré l'intérêt taxinomique.

Ces études nous ont conduit à proposer un nouveau schéma de descriptions et de détermination des Moraxella, à rejeter certaines appellations et à éliminer certaines espèces, à proposer enfin une hypothèse phylogénique.

- o -

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES MORAXELLA

CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

CONSTITUTION DES A. D. N.

P L A N

I - HISTORIQUE

- Nomenclature
- Taxonomie

II - A. D. N. ET SA SPECIFICITE TAXONOMIQUE

III - TRAVAUX PERSONNELS

- Techniques bactériologiques
- Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'A. D. N.
  - . Récolte de germes
  - . Extraction et purification de l'A. D. N.
  - . Estimation quantitative des bases puriques et pyrimidiques
- Etudes des différentes souches
  - . Groupe A
  - . Groupe B
  - . Groupe C
  - . Groupe D

IV - CONCLUSIONS

V - BIBLIOGRAPHIE

I - HISTORIQUE

HISTORIQUE

Au début du siècle, MORAX (37) puis AXENFELD (3) décrivent un diplobacille GRAM négatif, isolé d'une conjonctivite humaine. Ce germe exige la présence de sérum pour se développer. Il est nommé Bacillus lacunatus par EYRE (24). De 1900 à 1920 des espèces voisines , mais non serophile, sont décrites par différents auteurs : PETIT (38), JONES (29), SCARLET (44). Entre temps, en 1917, Bacillus lacunatus avait été rattaché au genre Hemophilus, nouvellement créé, par BROADHURST, BUCHANAN, KRUMWEIDE, ROGERS et SMITH (14).

En 1908, VON LINGELSHEIM (33) décrit un diplocoque Gram négatif rencontré quelquefois dans le liquide cephalo-rachidien et voisin, bien que distinguable, du méningocoque : Diplococcus mucosus. COWAN (19) et VERON (56) pensent que cette bactérie pourrait être nommée Neisseria mucosa. En 1953 SEELIGER (49) la rapproche de Bacterium anitratum.

C'est ainsi qu'en 1939 le genre MORAXELLA a été créé par LWOFF (34) pour réunir les diplobacilles dont l'espèce type avait été décrite par MORAX et qui présentent des caractères tels que l'aerobiose stricte et la non réduction des nitrates qui les éliminent de la famille des Enterobactéries. Par ailleurs, LWOFF refuse d'intégrer Bacillus lacunatus dans les hemophilus car, s'il est serophile, il ne possède pas, néanmoins, les exigences nutritives des Hemophileae. Il reconnait d'autre part une nouvelle espèce Moraxella Duplex, qui se distingue de Moraxella lacunata (Bacillus lacunatus) par son caractère non serophile.

Alice ANDUREAU (2) en 1940, décrit M. LWOFFI qu'elle isole de conjonctivite et ulcère cornéens. PIECHAUD B., PIECHAUD M. et SECOND (39) en 1951, découvrent une nouvelle variété de

M. LWOFFI qu'ils nomment : Moraxella lwoffi, variété glucidolytica. Cinq années après, ces mêmes auteurs (40) décrivent des souches se différenciant des précédentes par leur pouvoir protéolytique : Moraxella lwoffi, variété liquefaciens et Moraxella glucidolytica, variété liquefaciens.

Corrélativement à ces travaux français, un auteur américain DE BORD (21) étudiant les bactéries GRAM négatives qui, sur le plan morphologique peuvent être confondues avec des Neisseria, propose de les classer dans une tribu, celle des MIMEAE qui comprend trois genres :

- MIMA : Espèce type Mima polymorpha (oxydase négative) et sa variété oxydans (oxydase positive) les deux espèces n'acidifiant pas les glucides
- HERELLEA : Espèce type Herellea vaginicola qui acidifie les glucides sans dégagement de gaz.
- COLLOIDES : Espèce type Colloïdes anoxydans qui acidifie les glucides avec dégagement de gaz.

Pour cet auteur, Herellea vaginicola est identique à Moraxella glucidolytica et Mima polymorpha identique à Moraxella lwoffi ; Mima polymorpha (variété oxydans) identique à Moraxella duplex.

DEACON (20) en 1945 identifie également des Mima, Herellea et Colloïdes bien qu'il note une certaine absence de concordance, en ce qui concerne les fermentations glucidiques entre ses souches et celles décrites par DE BORD.

De 1948 à 1950, description de nouvelles espèces : Bacterium anitratum de SCHAUB et HAUBER (45) et B 5 W de STUART FORMAL et MAC GANN (52). L'identité de ces deux souches est mise en évidence par FERGUSSON et ROBERT (25). EWING (23) compare Bacterium anitratum avec quelques souches de Herellea de DEACON et conclue à leur identité (M. glucidolytica).

Un autre microorganisme isolé en 1952 par LEMOIGNE : Neisseria winogradsky est identique biochimiquement au Bacterium anitratum (VILENCOURT et JACOBELLI 57) .

Une différence importante entre le sous-groupe : lacunata - duplex et le sous-groupe : glucidolytica - lwoffi est soulignée par HENRIKSEN (28) et PIECHAUD M. (41) qui découvrent que le premier est Oxydase positive alors que le deuxième est Oxydase négative. Parmi les Moraxella à oxydase positive, PIECHAUD range Moraxella bovis (ou duplex variété bovis)décrit par JONES et LITTLE et qui est proteolytique.

En 1954 BRISOU et PREVOT (13) distinguent le genre ACINETOBACTER proche du genre ACHROMOBACTER décrit par BERGEY en 1923, mais qui permet de réunir toutes les espèces mobiles. Ils estiment, dans la thèse de BOURLAT (6bis), qu'il convient de classer les germes décrits sous les noms de Bacterium anitratum, Moraxella lwoffi variété glucidolytica, Moraxella lwoffi (variété brevis et bacteroïdes) dans le genre Acinetobacter.

En 1961, COURTIEU, CHASSIGNOL et LONGERAY (18bis) étudient les caractères bactériologiques de 214 souches de Moraxella lwoffi et de Moraxella glucidolytica isolées de produits pathologiques. Les caractères essentiels permettent de reconnaitre les quatre espèces suivantes :

Non glucidolytiques
- Non protéolytiques : Moraxella lwoffi
- Protéolytiques : Moraxella caseolytica

Clucidolytiques
- Non protéolytiques : Moraxella vaginicola
- Protéolytiques : Moraxella saponiphilum

.../...

Devant la complexité de la synonymie et des conceptions taxonomiques que nous avons brièvement résumées, il était logique que certains auteurs s'efforcent d'éclairer ce difficile problème par des études génétiques et tout particulièrement par celles des phénomènes de transformation. Nous avons souligné précédemment les rapprochements morphologiques qui peuvent exister entre les Moraxella et certaines Neisseria, il était donc normal de préciser les possibilités de transformation entre ces différents groupes .

La découverte du phénomène de transformation dans le genre Neisseria par ALEXANDER et REIDMAN (1) amène les travaux de CATLIN et CUNNINGHAM (15) qui démontrent, en utilisant la streptomycine comme marqueur, que l'on peut transformer diverses souches de Neisseria : ainsi Neisseria méningitidis, Neisseria flavia, Neisseria perflava, Neisseria subflava, Neisseria sicca et Neisseria flavescens, sont intertransformables.

BÖVRE et HENRIKSEN (7) en 1962 démontrent, quant à eux, la possibilité de transformation, en utilisant le même marqueur, entre les Moraxella du sous-groupe lacunata - duplex (Oxydase positive).

BÖVRE (8) deux ans plus tard, obtient la transformation entre certaines Neisseria et les Moraxella du sous-groupe lacunata - duplex. Cette expérience est confirmée par les travaux de CATLIN et CNNINGHAM (16). Enfin, CATLIN, CUNNINGHAM (17) et BÖVRE (11) montrent l'absence virtuelle de transformation entre les Moraxella oxydase positive et oxydase négative.

La position taxonomique des Moraxella déjà fort incertaine a été remises en question par les travaux de LAUTROP (31) en 1961, repris de manière plus générale et avec une élégante technique par PIECHAUD (42) en 1963. Considérées comme des bactéries immobiles depuis la découverte de la première espèce par MORAX, LAUTROP démontre que Bacterium anitratum

.../...

(M. glucidolytica) ainsi que Moraxella lwoffi (souche brevis d'AUDUREAU) manifestent un mouvement par glissement et rampement des cellules isolées. Aussi propose-t-il de classer ces microorganismes dans le genre Cytophaga (Myxobacteriales). PIECHAUD, quant à lui, démontre que toutes les Moraxella tant oxydase positive que négative présentent le même type de mobilité, mais il estime qu'il serait imprudent de tirer de ce fait des conclusions trop précises quant à la classification de ces germes. Incorporer les Moraxella parmi les Cytophaga semble en fait très prématuré, car trop de caractères les séparent par ailleurs, y compris la production de pigments. Il faut donc admettre que les Moraxella bien que non ciliées présentent une mobilité spéciale, caractère qui peut être ajouté à la définition morphologique du genre.

Enfin RYTER et PIECHAUD (43bis) en 1963 étudiant la morphologie des Moraxella par la technique de microscopie électronique remarquent que le noyau possède une forme plus complexe que celui des autres bactéries déjà étudiées ; quant à la paroi elle est constituée d'une couche interne dense et d'une couche externe faite de trois feuillets, elle est responsable de l'aspect mamelonné que l'on observe en contraste négatif. Cette structure nucléaire et pariétale les rapprocherait des Vitreoscilla qui sont des Cyanophycées sans chlorophyle.

Au cours des trois dernières années, le problème ne fait que se compliquer avec la description, soit de nouvelles espèces, ou bien, tout simplement, la substitution d'appellations d'espèces déjà controversées, par d'autres tout aussi contestables. C'est ainsi que BÖVRE et HENRIKSEN (10) décrivent une espèce particulière : Catalase positive, oxydase positive, urease positive et possédant une tryptophane desaminase semblable aux souches décrites par ailleurs par FLATT (26) sous le nom de Moraxella polymorpha. Déjà connue sous différentes nominations, Moraxella duplex variété non liquefaciens = Moraxella non liquefaciens = Mima polymorpha, variété oxydans, devrait à la suite des travaux effectués par BÖVRE et HENRIKSEN (9), être dénommée Moraxella

.../...

osloensis. Ces mêmes auteurs décrivent (12) en 1968 une nouvelle espèce de Moraxella hémolytique et glucidolytique, qu'ils baptisent Kingii en l'honneur de Miss E. O. KING qui, la première, la décrivit.

1897 ORAX et XENFELD	1899 EYRE	1908 VON LIN- GELSHEIM	1917	1923 JONES et LITTLE	1937 HANDUROY	1939 / 40 LWOFF
acille de orax et xenfeld	Bacillus Lacunatus		Hemophilus Lacunatus			Moraxella Lacunata
						Moraxella duplex
				Diploba- cille de Jones et Little	Hémophilus Bovis	Moraxella Bovis
						Moraxella Lwoffi
		Diplococcus Mucosus				

1942 DE BORD	1948 SCHAUB et HAUBER	1949 STUART	1951 PIECHAUD	1952 LEMOIGNE	1954 BRISOU et PREVOT	1956 PIECHAUD
					Moraxella (s.g.) lacunata	M. Lacunata typica (liquef.)
						M. Lacunata typica (non liquef.)
ma poly-rpha va-été oxy-ns					Moraxella (s.g;) Duplex	M. Duplex liquefac.
						M. Duplex non liquefaciens
					Moraxella (s.g.) bovis	Moraxella bovis
ma lymorpha					Acineto-bacter Lwoffi	Moraxella lwoffi liquefac.
						Moraxella lwoffi non liquefac.
rellea gini-la	Bacterium Anitratum	B 5 W	Moraxella lwoffi variété glucido-lytica	Neisseria Wino-gradsky	Acineto bacter Anitratum	Moraxella glucido-lytica liquefac.
						Moraxella glucido-lytica non liq.

1957 FLAMM	1959 VERON	1961 COURTIEU	1962 BOVRE et HENRIKSEN	Actuellement rencontrés dans la littérature
				Moraxella lacunata typica (liquefaciens)
				Moraxella lacunata atypica (non liquefaciens)
				Moraxella duplex liquefaciens = Moraxella liquefaciens
				Moraxella duplex non liquefaciens
				Moraxella bovis
				Moraxella non liquefaciens
			Moraxella osloensis	Moraxella osloensis
Moraxella polymorpha			Moraxella phénylpyrouvica	Moraxella phénylpyrouvica
			Moraxella Kingii	Moraxella Kingii
		Moraxella caseolytica		Moraxella lwoffi liquefaciens Acinetobacter " " Achromobacter " "
		Moraxella lwoffi		Moraxella lwoffi non liquefac. Acinetobacter " " " Achromobacter " " "
	Neisseria mucosa	Moraxella saponiphilum		Moraxella glucidolytica liquefac. Acinetobacter " " Achromobacter " "
		Moraxella vaginicola		Moraxella glucidolytica non liquéf. Acinetobacter " " Achromabacter " "

TAXONOMIE

Le tableau des synonymies montre l'extrême confusion qui règne dans la taxonomie des Moraxella, d'autant plus que beaucoup d'espèces sont classées selon les auteurs soit parmi les Achromobacter, soit parmi les Acinetobacter, soit enfin dans le groupe des Moraxella sensu-stricto tel qu'il a été défini par LWOFF.

Il est certain que les Achromobacter ou Acinetobacter et les Moraxella présentent certains points communs ; indépendamment de leur morphologie, leur habitat soit endogène en différents points de l'organisme, soit exogène dans le sol et dans les eaux, explique l'imprécision des nomenclatures actuelles.

Pour préciser ces différentes positions taxonomiques, nous donnons les principales classifications actuellement envisagées.

CLASSIFICATION FRANCAISE DE PREVOT (43)

Sous embranchement : Eubactérie

Classe : Asporulales

Ordre : Bactériales

Famille : Pseudomonadaceae

Tribu : Achromobactereae

Deux genres : Achromobacter
Acinetobacter

PREVOT range les Moraxella parmi les Acinetobacter dans un sous-genre (Moraxella)

Définition des Acinetobacter : Achromobactereae immobiles, parfois encapsulés, formes courtes et coccoïdes fréquentes. Culture facile sur les milieux ordinaires. Quelques espèces pathogènes pour l'homme.

Espèce type : Acinetobacter Stenohalis.

Définition du sous-genre Moraxella : Bâtonnets immobiles de taille moyenne souvent en paires et en chaînettes, avec forme d'involution longues, incolore, non capsulées, asporulées, GRAM - . Aérobie. Ne font pas fermenter les glucides en général, n'exigent pas les facteurs de croissance V et X mais sont stimulés par l'addition de sérum ou d'ascite.

Espèce type : Moraxella lacunata.

Autres espèces décrites : Moraxella duplex (liquefaciens)

2 variétés : 1°) non liquefaciens
2°) Josephi

.../...

Moraxella lwoffi

3 variétés : 1°) Brevis
2°) Bacteroïdes
3°) Glucidolytica

Moraxella bovis

- o -

CLASSIFICATION AMERICAINE DE BERGEY (4)

Classe : Schizomycètes

Ordre : Enbactériales : 13 familles

Familles : Azotobacteraceae

Rhizobiaceae

Achromobacteraceae : comprend 5 genres

Alcaligènes
Achromobacter

Certaines espèces d'Alcaligènes immobiles et d'Achromobacter doivent correspondre aux germes par ailleurs décrits sous les noms d'Acinetobacter anitratum et Acinetobacter lwoffi.

Flavobacterium
Agarbacterium
Beneckea

Enterobacteriaceae

Brucellaceae : comprend 8 genres

Pasteurella
Bordetella
Brucella
Haemophilus
Actinobacillus
Calymmatobacterium

Moraxella

Les Moraxella sont définis comme des germes non mobiles à 37° C. et ayant une prédominance de forme en diplobacilles

Trois espèces: Moraxella lacunata (non liquefaciens)

Moraxella liquefaciens

Moraxella Bovis

Bordetella
Noguchia

Bacteroïdeaceae

Micrococcaceae

Neisseriaceae

Brevibacteriaceae

Lactobacillaceae

Propionibacteriaceae

Corynebacteriaceae

Bacillaceae

- 0 -

CLASSIFICATION ANGLAISE DE TOPLEY et WILSON'S (53bis)

Genre Achromobacter .

Définition : Bacilles et coccobacilles, GRAM négatif. Aerobie strict. Ne produisant pas de pigment. Certains sont sans action sur les glucides, d'autres au contraire les utilisent par métabolisme oxydatif.Achromobacter anitratum

Genre Moraxella .

Définition : Bacilles courts, associés par paires. Immobiles. GRAM négatif. Pléomorphisme dans les cultures agées. Culture difficile et nécessitant souvent l'apport de protéines animales. Pas ou peu d'activité fermentaire. Liquefiant ou non liquefiant la gélatine. Oxydase et catalase positive. Sensible à la pénicilline et à beaucoup d'autres antibiotiques. Parasites stricts. Quelques espèces pathogènes pour l'homme et les animaux.

Espèce type : Moraxella lacunata

Autres espèces décrites :

Moraxella liquefaciens
Moraxella duplex variété non liquefaciens
Moraxella bovis.

BUTTIAUX (1969)

Cet auteur admet le genre Moraxella mais il sépare les micro-organismes étiquetés B5W et Bacterium Anitratum qu'il considère à son avis comme les parfaits représentants des Acinetobacter individualisés par Brisou.

II - A. D. N. ET SPECIFICITE TAXONOMIQUE

A. D. N. ET SPECIFICITE TAXONOMIQUE

"L'identification des bactéries repose sur la recherche expérimentale d'un nombre restreint de caractères phénotypiques choisis plus ou moins arbitrairement".(48) La détermination de ces caractères permet non seulement de rattacher la souche étudiée à une espèce particulière mais aussi de la rallier à des groupes systématiques ; les affinités entre ces groupes étant marquées par des caractères phénotypiques communs. Comme le souligne M. VERON (55) la liste des caractères à étudier doit être dressée avec minutie car il existe des caractères non significatifs, c'est à dire toujours positifs ou toujours négatifs chez toutes les bactéries étudiées ; or la négativité de nombreux caractères est fréquente chez les Moraxella ce qui explique peut être en partie l'imprécision actuelle de leur classification.

Néanmoins l'aspect des individus constituant la population bactérienne (phénotype) correspond directement à la constitution héréditaire de l'espèce (génotype). On peut donc penser qu'une étude plus fine de la systématique bactérienne pourrait reposer sur la compatibilité génétique des microorganismes c'est à dire en fait sur l'étude chimique des macromolécules responsables de l'information puisqu'elles dirigent l'expression des caractères phénotypiques. C'est pourquoi VENDRELY (54) exprima dès 1958 l'espoir que l'espèce bactérienne pourrait être déterminée essentiellement par la structure de son A. D. N.

Dans l'état actuel de nos connaissances et des techniques, il est difficile de déterminer l'ordre d'enchainement des nucléotides d'un A. D. N. donné et on ne peut définir l'information génétique en terme de séquence nucléotidique. Néanmoins, la détermination de la teneur globale en bases de l'A. D. N., technique plus accessible, peut conduire à éclairer la systématique bactérienne. On sait en effet qu'il existe un équilibre nécessaire entre les bases puriques et pyrimidiques.

.../...

Les travaux de CHARGAFF (18), de KI. YONG. LEE, WAHL et BARBU (30) 1956 et de BELOZERSKY (3bis) ont montré que chez les microorganismes le rapport $\frac{A + T}{G + C}$ pouvait varier de 0,4 à 2,7 et que pour une espèce donnée il était constant aux erreurs d'expérience près. Des analyses exhaustives ont été faites également en France par SEBALD M. (46) - SEBALD M. - VERON M. (47) - SEBALD M. - GASSER F. - WERNER H. (48) - GASSER F. - SEBALD M. (27) - MICHEL G. (36) - BOUISSET L. - BREUILLAUD J. - MICHEL G. (5) - BOUISSET L. - BREUILLAUD J. - MICHEL G. (6). Les conclusions qui ressortent de ces études peuvent être résumées de la manière suivante :

- Le rapport $\frac{A + T}{G + C}$ possède une valeur spécifique caractéristique de l'espèce,

- Les espèces bactériennes voisines sur le plan taxonomique ont une composition en base de leur A.D.N. semblable ou très proche,

- L'A.D.N. bactérien peut subir des variations importantes d'espèce à espèce révélant leur diversité.

Cependant il peut exister des possibilités de transformation entre bactéries dont la composition en bases exprimée par le GC % diffère de 3 à 4 %. On considère alors que l'information génétique est sous la dépendance d'episomes non intégrés dans le chromosome. Mais il existe une limite dans la variation de la composition en bases compatible avec les transferts épisomiques. Ces phénomènes de "sexduction" autant qu'on les connaisse actuellement, n'apparaissent donc qu'entre certaines espèces microbiennes définies par une parenté de leur GC % ; ils permettent donc de définir indépendamment de l'espèce de grands groupes tels que les familles.

.../...

La détermination de la constitution en bases des A.D.N. microbiens semble donc actuellement une méthode valable et relativement commode pour apprécier les compatibilités génétiques entre les différentes espèces et établir les fondements d'une taxonomie moléculaire.

D'autant plus que, comme l'ont montré tous les travaux précédemment cités, les résultats obtenus ne sont jamais sous la dépendance des conditions expérimentales :

- Composition du milieu de culture,
- Température d'incubation
- Age de la culture

Mais c'est en fin de la phase exponentielle de croissance que la quantité d'A.D.N. extractible arrive à son maximum et, pour des raisons techniques, c'est toujours à cette phase de la culture qu'il convient de récolter les bactéries destinées aux essais expérimentaux.

- o -

III - TRAVAUX PERSONNELS

TECHNIQUES BACTERIOLOGIQUES

ETUDE DES CARACTERES MORPHOLOGIQUES

La morphologie reste un critère important de la définition des Moraxella. Elle a été étudiée sur des cultures en milieux solide et liquide, en phase exponentielle de croissance, par la méthode de coloration de GRAM.

La présence d'une capsule est recherchée par la méthode de coloration simple au bleu de méthylène.

La mobilité est éventuellement mise en évidence par examen à l'état frais d'une culture de 24 heures à 37°C. en contraste de phase (les germes étudiés étant aérobie stricts on ne peut utiliser le milieu gélose/mobilité).

ASPECT DES CULTURES

L'aspect des cultures et la morphologie des colonies sont notés après :

- Examen en milieu liquide, en général, bouillon ordinaire additionné de sérum quand il s'agissait de germes du sous-groupe duplex-lacunata ou utilisé tel quel pour les autres espèces ;
- Examen sur milieu solide
  - gélose ordinaire supplémentée ou non en sérum
  - gélose profonde pour juger éventuellement du caractère d'anaérobiose facultative
  - sérum coagulé pour déterminer un éventuel pouvoir protéolytique.

ETUDE DU METABOLISME GLUCIDIQUE

1°) - Recherche du métabolisme oxydatif ou fermentatif : milieu de HUGH et LEIFSON additionné de glucose à 1%.

2°) Réactions du rouge de méthyle et de VOGES - PROSKAUER : milieu de FOUAD

- Glucose	5 g.
- Na Cl	5 g.
- PO4 HK2	5 g.
- PO4 H2K	2 g.
- PO4 H2 NH4	2 g.
- SO4 Mg 7H 20	0 g. 2
- SO4 Mn 4 H2 O	0 g. 02
- FeCl3	0 g. 005
- eau distillée q.s.p	1000 ml.

Ce milieu, réparti à raison de 5 ml. dans des tubes de 160 x 16 est autoclavé 20 minutes à 100° C. Après ensemencement, il est mis à incuber 48 heures à 37°C.

Réaction du rouge de méthyle :

On place dans un tube à hémolyse :
- 2 ml. de culture en milieu de FOUAD
- 2 gouttes d'une solution de rouge de méthyle à 0,5 % dans l'alcool à 60°

Lecture : Teinte rouge, réaction positive
Teinte jaune, réaction négative

Réaction de VOGES-PROSKAUER ou production d'acétyl-méthyl-carbinol = acétoïne :

On place dans un tube à hémolyse :
- 0,5 ml. de culture en milieu de FOUAD
- 0,5 ml. d'une solution de soude à 40 % dans l'eau
- une pincée de creatine

agiter vigoureusement 2 minutes, si la réaction est positive on a apparition d'une teinte allant du rose au rouge dans les 2 à 5 minutes.

.../...

3°) Action sur les glucides

Nous avons recherché la production d'acides à partir de différents sucres :

- Hexoses : glucose, mannose, galactose, fructose (lévulose)
- Pentoses : arabinose et xylose
- Dissacharides : lactose, maltose, saccharose
- Divers : mannitol, dulcitol, glycérol, amidon

Ces sucres sont apportés au moment de l'emploi sous forme d'une solution concentrée (10% ou 30%) stérilisée par filtration. Ils sont ajoutés au milieu de base de manière à obtenir une concentration finale de 1%. Celui-ci est pour les germes sérophiles additionné d'une quantité minima de sérum. La lecture se fait par rapport à un témoin.

* MILIEU I *

- Extrait de viande de boeuf	1 g.
- Peptone	10 g.
- NaCl	5 g.
- Rouge de phénol	0 g. 018
- Eau distillée q.s.p	1000 ml.

Chauffage doux pour dissoudre, ajuster le pH à 7,6 répartir à raison de 5 ml. dans des tubes de 160 x 16 munis d'une petite cloche à gaz, stériliser 20 m. à 120° C.

Dans ce milieu de couleur rouge, l'acidification se manifeste par un virage au jaune de l'indicateur coloré.

* MILIEU SPECIAL POUR L'ETUDE DE L'UTILISATION DU LACTOSE *

* A UNE CONCENTRATION DE 10 % *

- Acide para amino-benzoïque	0 g. 04
- Extrait de levure	1 g. 5
- Peptone	15 g.
- Agar	20 g.
- Pourpre de bromocrésol	0 g. 04
- Eau distillée q.s. p	1000 ml.

.../...

Chauffage doux pour dissoudre, ajuster le pH à 7, répartir à raison de 3 ml. dans des tubes de 160 x 16, stériliser 20 minutes à 120° C.

La solution de lactose à 20 % dans de l'eau distillée est stérilisée par filtration. On ajoute 3 ml. de cette solution à chaque tube de la base précédente sortie de l'autoclave et ramenée à la température de 60° C. environ. On laisse refroidir en position inclinée comme pour la préparation du milieu de HAJNA-KLIGER.

* MILIEU II *

L'utilisation des glucides comme seule source de carbone est mise en évidence sur un milieu dépourvu de toute matière carbonée, mais contenant seulement quelques sels minéraux

- SO4 $(NH4)2$	2 g.
- SO4 Mg	0 g. 2
- PO4 HK2	0 g. 2
- ClNa	0 g. 2
- Cl2Ca	0 g. 1
- Bromocrésol pourpre aqueux	0 g. 015

Répartir à raison de 5 ml. en tubes de 160 x 16, stérilisation 20 minutes à 120° C. Ce milieu initialement pourpre devient jaune par acidification.

ETUDE DU METABOLISME PROTEIQUE

1°) Etude du pouvoir protéolytique : Outre l'utilisation du sérum coagulé déjà mentionné , nous avons utilisé:

- la méthode de KOHN-LAUTROP utilisant la gélatine dénaturée au charbon. Ensemencement d'un bouillon ordinaire contenant un petit cube de gélatine imprégné de charbon végétal. Le pouvoir protéolytique se manifeste par une liquéfaction de la gélatine avec libération du charbon qui se collecte au fond du tube ;

- la méthode de LE MINOR et PIECHAUD utilisant des bandes de 5 mm. environ de film préalablement exposé et révélé.

2°) Recherche de la production d'Indol :

Quelques gouttes de réactif de KOWACKS sont ajoutées à la culture en fin de phase exponentielle de croissance. La présence d'indol est indiquée parl'apparition d'un anneau rouge cerise.

- Réactif de KOWACKS : paradiméthylaminobenzaldéhyde 5g.
  alcool amylique 75ml.
  acide chlorydrique pur 25ml.

3°) Recherche de la réduction des nitrates en nitrites :

Nous avons utilisé un bouillon nitraté (1% de NO3K pur). Après culture, on ajoute successivement, 1 ml. du réactif A et 1 ml du réactif B de GRIESS.

- Réactif de GRIESS A : Acide sulfanilique 0,5 g.
  Acide acétique à 30% 150 ml.

- Réactif de GRIESS B : Naphtyl amine 0,5 g.
  eau 50 ml.

Porter à ébullition, décanter, ajouter acide acétique à 30% : 150 ml.

4°) Recherche de la production d'H2S :

Un papier filtre imprégné d'une solution saturée de sous-acétate de plomb est placé dans l'atmosphère d'un tube de culture. Le dégagement de H2S se traduit par un noircissement plus ou moins intense du papier réactif.

.../...

UTILISATION DE CERTAINES SUBSTANCES COMME SEULE SOURCE DE CARBONE

1°) Utilisation du citrate : Milieu de SIMMONS

2°) Utilisation de l'alcool éthylique :

Solution I

- PO_4HK_2	4 g. 5
- $SO_4(NH_4)_2$	0 g. 75
- ClK	0 g. 50
- $SO_4Mg\ 7\ H_2O$	0 g. 05
- eau distillée q.s.p	1000 ml.

Solution II

- Citrate ferrique ammoniacal	100 mg.
- $CaCl_2$ anhydre	100 mg.
- eau distillée q.s.p	100 ml.

Ces deux solutions sont préparées séparément. La solution I doit avoir spontanément un pH de 7,3 - 7,4. Chaque solution est répartie séparément à raison de 5 ml. en tubes de 16 x 160 ; stériliser par autoclavage 30 minutes à 110° C.

Lors de l'emploi on ajoute aseptiquement dans les 5 ml. de solution I une goutte de solution II et une goutte d'alcool éthylique à 95° C.

ETUDE DU POUVOIR HEMOLYTIQUE

Elle est réalisée :

- sur gélose au sang humain
- sur gélose au sang de cheval
- sur gélose au sang de lapin.

ETUDE DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE

1°) Recherche de la catalase :

On verse dans une culture en bouillon quelques

.../...

gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes ; la catalase produite par le microorganisme décompose l'eau oxygénée en oxygène gazeux.

2°) Recherche de l'oxydase : Réaction de KOWACS.

Déposer 2 à 3 gouttes de solution aqueuse à 1% de Chlorhydrate de tétraméthylparaphénylène diamine sur un petit fragment de papier Whatmann n°1 placé sur une lame de verre. Prélever avec un fil de platine droit une parcelle de la colonie du germe à étudier (culture de 18 heures à 24 heures sur gélose avec ou sans serum) ; placer sur le papier et étaler. Une coloration brune survenant immédiatement prouve l'existence d'un oxydase dans le système enzymatique du germe. Nous n'avons pas tenu compte des réactions tardives.

3°) Recherche de l'urease : Milieu de STUART

4°) Recherche de la lysine décarboxylase : technique de CARLQUIST

Composition du milieu

- Trypticase (BBL) 15 g
- Phosphate bipotassique 2g
- Glucose 1 g
- Eau distillée q.s.p. 1000 ml.

Dissoudre par chauffage doux, répartir à raison de 5ml. par tube de 16 x 160, auclavage 20 minutes à 120° C. Ensemencer le tube, incuber 24 heures à 37° C, additionner de 1 ml. de NaOH 4N et de 2 ml. environ de CHCl3. Agiter, laisser décanter le CHCl3, en prélever 0,5 ml. que l'on additionne de 0,5 ml. de réactif à la ninhydrine (0,1 % dans du CHCl3) l'apparition d'une coloration violette en moins de 5 minutes indique une réaction positive.

.../...

5°) Recherche de la phényl alanine desaminase :

Réactif : Solution aqueuse de phényl alanine à 0,5 %
Perchlorure de fer officinal dilué au 1/3

Technique : Placer dans un tube à méholyse :
- 4 gouttes d'eau physiologique
- 4 gouttes de la solution de phényl alanine

Emulsionner une öse de culture de 18 heures ; agiter manuellement 10 minutes et additionner d'une goutte de perchlorure de fer.

Lecture : La désamination de la phényl alanine avec formation d'acide phényl pyruvique se manifeste par une coloration verte intense.

6°) Recherche de la lipase extra cellulaire :

Selon leprocédé de SIERRA (49bis)

- Sous-groupe : Lwoffi-glucidolytica
gélose ordinaire supplémentée de 0,01 % de tween 80 et 1% de chlorure de calcium

- Sous-groupe : Duplex-lacunata
V.L. solide supplémenté de 1% de serum, 0,01 % de tween 80 et 1% de chlorure de calcium.

ETUDE DE L'ACTION DES ANTIBIOTIQUES

Nous avons utilisé la méthode de diffusion en gélose (antibiogramme) ; avec comme milieu la gélose spéciale pour antibiogramme de l'Institut Pasteur. Par ailleurs les disques d'antibiotiques proviennent également de l'Institut Pasteur.

Nous avons choisi :

- deux dérivés du B Lactame :
  - penicilline à 2 U. et 10 U.
  - oxacilline
- un dérivé du chloramphénicol:
  - chloramphénicol lui même

.../...

- un dérivé du groupe des tétracyclines :
  - tétracycline elle même
- un dérivé glucosidique:
  - streptomycine
- un dérivé du groupe des macrolides :
  - erythromycine
- un sulfamide :
  - sulfapyridine
- un dérivé du nitrofurane:
  - furadoïne.

La lecture est effectuée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition. Cette distance est reportée sur l'échelle de concordance fournie par l'Institut Pasteur, qui donne directement la catégorie (sensible, intermédiaire, résistante) correspondante.

Celle-ci par ailleurs nous fournit également la concordance entre le diamètre de la zone d'inhibition et la concentration minima inhibitrice en mcg/ml.

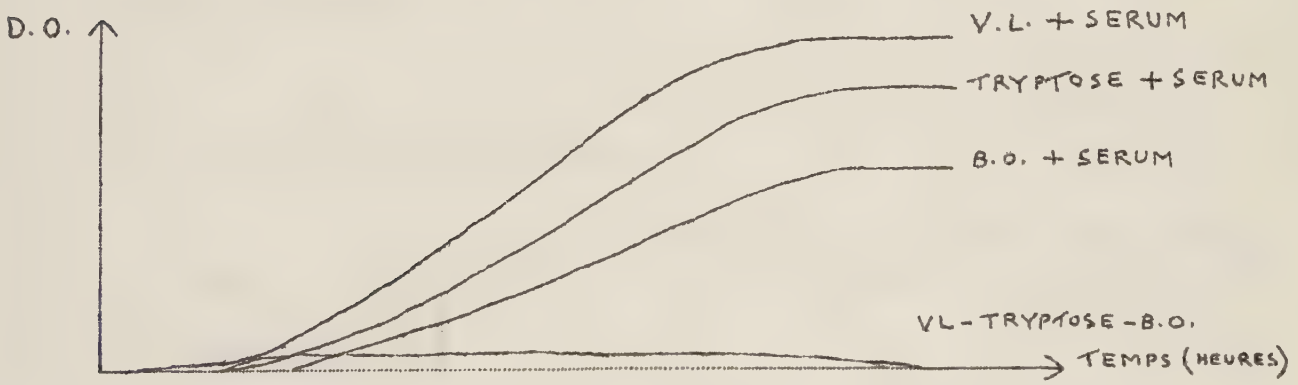
- o -

TENEURS EN BASES PURIQUES ET PYRIMIDIQUES DE L'A.D.N.

I - RECOLTE DES GERMES -

Les milieux utilisés sont nécessairement différents selon qu'il s'agit de Moraxella du sous-groupe lacunata-duplex ou du sous-groupe glucidolytica-lwoffi. Pour le sous-groupe glucidolytica-lwoffi, une étude au biophotomètre enregistreur a montré que l'utilisation de milieux riches tels que le bouillon V.L. glucosé ou le bouillon tryptose (ces milieux étant utilisés seuls ou additionnés de sérum) donnaient un rendement très voisin de celui obtenu avec le bouillon ordinaire. Etant donné les quantités de milieux utilisés, nous avons opté pour celui-ci. Pour le sous-groupe lacunata-duplex :

- Moraxella lacunata : une étude comparative au biophotomètre enregistreur entre trois milieux : bouillon ordinaire, bouillon tryptose, bouillon V.L., avec et sans supplémentation en sérum à 5%, nous donne les résultats suivants et cela à quelques variantes près selon les souches utilisées.



D'après ces courbes, il est démontré :

1°) que Moraxella lacunata typica et atypica exige la présence d'une certaine quantité de sérum ;

2°) que leur croissance est très abondante en milieu V.L. qui est normalement utilisé pour les anaérobies.

Pour fixer la concentration de sérum la plus favorable, nous avons utilisé du bouillon V.L. additionné de 1%, 2%, 4%, 10%, 20%, 30%, de sérum. Les courbes obtenues au biophoto-

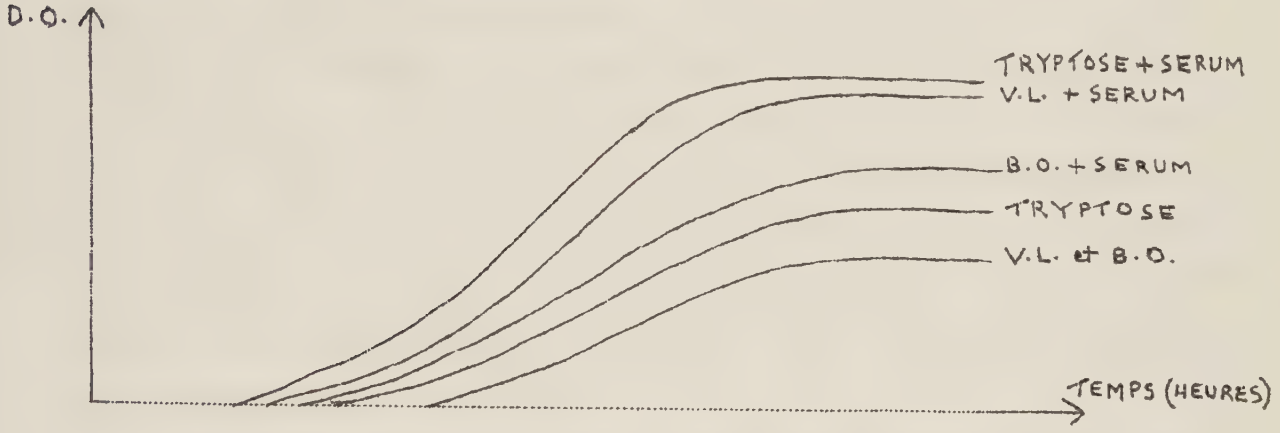
.../...

mètre enregistreur montrent que la concentration en germes augmente proportionnellement à la concentration en sérum, et ceci jusqu'à 20%. Nous avons choisi la concentration de 10% qui donne généralement un rendement suffisant.

- Moraxella duplex :

a) - Moraxella duplex, variété liquefaciens.

Reprenant les essais précédents, nous obtenons les courbes suivantes :



Nous avons utilisé le bouillon tryptose additionné de sérum à 10%.

b) - Moraxella duplex, variété Bovis.

Ses exigences nutritionnelles sont identiques à celles des souches précédentes.

c) - Pour Moraxella duplex, variété non liquefaciens, la culture est plus facile et permet l'utilisation du bouillon ordinaire.

La nécessité d'obtenir une masse bactérienne importante nous a conduit à utiliser, pour effectuer les cultures, une unité de fermentation (type Biolaffite).

Le fermenteur est rempli de 5 litres de milieu, stérilisé pendant 50 minutes environ soit :

- 30 minutes de montée de température
- 20 minutes de maintien à 120° C.

.../...

On laisse refroidir à 80° C. dans l'autoclave, puis on amène à la température adéquate en utilisant la circulation d'eau froide.

Ensemencement :

La souche à étudier est d'abord repiquée sur milieu solide, puis ensuite transférée en milieu liquide placé dans des fioles de 500 ml. Ce "pied de cuve" permet l'ensemencement du fermenteur. Le volume de l'inoculum joue un grand rôle dans le départ de culture ; il faut utiliser 5% environ du volume total du milieu. L'expérience nous a prouvé que des volumes inférieurs allongent la phase exponentielle et diminuent le rendement ce phénomène n'a pas encore trouvé d'explication valable. S'agit-il d'un effet de masse souvent rencontré en biologie, réalisant la concentration optima d'un facteur inconnu nécessaire au démarrage des cultures, ou bien peut-on penser à la présence, au sein de la masse bactérienne de quelques unités moins exigeantes qui, seules, permettraient le démarrage de la culture

Paramètre de la culture :

1°) Température : l'optimum est en général très large, de 30°C. à 38°C. ; 36°C. nous a donné un rendement toujours suffisant.

2°) Agitation : L'appareil est utilisé en système "Anti-Vortex" : les contre-pales sont orientées de façon à les opposer au mouvement de rotation du milieu. Ce système assure un meilleur coefficient de transfert d'oxygène très appréciable quand on travaille avec des germes aérobies stricts.

3°) Aération : l'oxygène nécessaire est amené sous pression et réglé par un débit-mètre à section variable.

4°) Dispositif anti-mousse : la production de ces microorganismes exigeant une diffusion d'oxygène importante entraine la formation de mousse. Nous avons donc utilisé un dispositif de régulation automatique anti-mousse ; le liquide réducteur étant l'huile de paraffine.

.../...

Récolte des germes :

Les cultures sont arrêtées en phase exponentielle de croissance, en vue de l'obtention d'une quantité maximum d'A.D.N.

Les bouillons seront alors centrifugés à 5.000 tours minute pendant 30 minutes. Certaines souches très muqueuses (par exemple Moraxella lwoffi n°25) transforment le milieu en une masse sirupeuse ,nous obligeant à diluer le milieu avant centrifugation.

II - EXTRACTION ET PURIFICATION DE L'A.D.N.

Lavage :

Après la centrifugation des cultures, le culot bactérien est lavé à froid avec une solution de :

- Cl Na 0,14 N
- Citrate de Na 0,01 M

dans le but d'inhiber très rapidement l'effet des désoxyribonucléases. On opère une nouvelle centrifugation et on place le culot ainsi obtenu à - 70° C.

Destruction de la membrane bactérienne :

Divers moyens sont proposés à cet effet.

- Moyens physiques :
  - . Froid : congélation - décongélation
  - . Ultrasons
- Moyens chimiques :
  - . Détergents, ex. : Lauryl sulfate de sodium
- Moyens biologiques :
  - . Lysozyme
- Moyens mécaniques :
  - . Broyage dans des appareils spéciaux :

    Type Virtis, qui est un homogénéiseur tournant au minimum à 100 tours/minute et au maximum à 45.000 tours/minute. La désintégration des bactéries se

.../...

fait en présence de microbilles de verre projetées par un rotor circulaire dentelé. Les opérations sont effectuées à 0° C.

Aucune de ces méthodes n'est d'emblée satisfaisante, mais dans le cas qui nous intéresse ici, le dosage des bases constitutives de l'A.D.N. bactérien peut être effectué sur un A.D.N. biologiquement inactif, ce qui permet d'employer des méthodes brutales. Nous avons utilisé une technique mixte dont le schéma est le suivant :

- Culot bactérien après deux lavages,
- Congélation à - 70°C. ,
- Décongélation et passage de 10 minutes à 45.000 tours/minute au Virtis ,
- Congélation à - 70°C. ,
- Décongélation et passage de 10 minutes à 45.000 tours/minute au Virtis.

Destruction de l'A.R.N.:

Dès la fin de l'extraction l'A.R.N. est détruit par hydrolyse alcaline selon la technique de SMITH et WYATT (50) : hydrolyse à 37°C. pendant 18 heures à 20 heures, par la soude, à raison de 10 ml. de Na OH N par gramme de bactérie sèche.

Déprotéinisation :

Selon la technique de SEVAG. En général deux "SEVAG" ont été effectués. Le premier réalisé sur le surnageant d'extraction à la soude, contenant donc billes de verre, germes résiduels, parois et constituants cellulaires en solution, permet une bonne déprotéinisation, la présence de billes de verre durant l'agitation mécanique facilitant probablement la formation d'un gel de protéine. Le résidu de l'hydrolyse à 37°C. est additionné d'un

.../...

égal volume du mélange : chloroforme 8 volumes/alcool octylique 1 volume, puis agité 30 minutes. Une centrifugation à 5.000 tours/minute permet d'obtenir un surnageant parfaitement limpide qui sera immédiatement décanté. A ce stade, on peut apprécier à la surface du chloroforme la quantité de protéines éliminées ; l'importance de ce gateau varie avec les espèces. L'A.D.N. est de nouveau précipité par l'alcool à 96°. Au bout de 30 minutes on centrifuge le précipité et le culot obtenu est redissous dans la Na OH N. Une nouvelle déprotéinisation par la méthode de SEVAG est réalisée.

Purification et Précipitation de l'A. D. N. :

La déprotéinisation terminée, le liquide contenant l'A.D.N. est dialysé contre de l'eau distillée pendant 48 heures, puis l'A.D.N. est précipité par l'alcool à 96° (3 volumes pour un volume de liquide dialysé) et un ml. de solution saturée de Cl Na. Le précipité est successivement lavé dans l'alcool à 70°, à 80°, à 96°, à 100°, puis déshydraté dans l'éther. Le précipité obtenu est recueilli dans un becher taré, mis à l'étuve à 100°C. une heure, laissé au dessicateur pendant la nuit et pesé.

Dosage de l'A. D. N. :

Il existe de nombreuses méthodes de dosage des polynucléotides par des réactions colorées spécifiques révélant la présence des bases ou du désoxyribose. Nous utilisons la réaction de DISCHE (22) : la présence de diphénylamine donnant une coloration bleue dont l'intensité varie avec la quantité de désoxyribose. Par chauffage en milieu acide concentré, les pentoses sont déshydratés et cyclisés en dérivés furfuraliques. Ce sont ces dérivés qui, secondairement, se combinent à la diphénylamine pour donner des matières colorantes bleues.

Réactif :

Diphénylamine	1gr.
Acide acétique glacial	97 ml. 25
Acide sulfurique pur	2 ml. 75

.../...

Technique :

Une quantité rigoureusement pesée d'A.D.N. impur est dissoute dans 5 ml. d'acide trichloracétique à 5 %. Le mélange est porté à 90° C. pendant 15 minutes. Il est ensuite refroidi et le liquide surnageant après centrifugation est transvasé dans un tube gradué de 15 ml. On opère une deuxième extraction dans les mêmes conditions. Le résidu est lavé avec de l'acide trichloracétique à 2,5 %. Les eaux de lavage sont jointes aux 10 ml. d'extraits et l'ensemble est amené à un volume de 15 ml. (solution A).

Deux tubes sont préparés comme suit :

Tube X (contenant la solution à doser) :

- Solution A	3 ml.
- Réactif de DISCHE	6 ml.

Tube témoin :

- Eau distillée	3 ml.
- Réactif de DISCHE	6 ml.

Les deux tubes sont portés au bain-marie bouillant pendant 10 minutes, refroidis et comparés au photocolorimètre de KIPP et ENGELS (Filtre 610 $m\mu$) Lecture effectuée au maximum au bout de 10 minutes.

III - ESTIMATION QUANTITATIVE DES BASES PURIQUES ET PYRIMIDIQUES -

a) Hydrolyse des bases puriques et pyrimidiques :

Le pourcentage d'A. D. N. contenu dans l'échantillon à analyser étant connu, il est alors possible d'en effectuer l'hydrolyse, la composition des bases puriques et pyrimidiques de l'A. D. N. est déterminée par des techniques qui ont été parfaitement décrites dans les travaux de WYATT (58).

Il existe de nombreuses méthodes d'hydrolyse : les plus classiques sont :

- hydrolyse par l'acide formique (WYATT 1951-1955)
- hydrolyse par l'acide perchlorique selon la technique de MARSHAK et VOGEL (35).

.../...

On peut utiliser selon les techniques décrites par ces auteurs de l'acide formique pur à 175° C. pendant 30 à 120 minutes ; ou de l'acide perchlorique 12 M (70 %) à 100° C. pendant une heure. Nous avons préféré l'acide perchlorique à 65% ajouté à l'A.D.N. de telle manière que la concentration en A. D. N. du mélange soit de l'ordre de 6 à 8 % (cela afin d'éviter une perte en thymine dûe à une excès d'acide perchlorique). On effectue cette opération dans un tube en pyrex que l'on scelle et qui est porté au bain-marie bouillant pendant une heure. Après refroidissement l'hydrolysat est dilué avec 2 volumes d'eau distillée et le tube rapidement centrifugé pour obtenir la sédimentation du résidu de carbone. Le liquide surnageant immédiatement pipeté est alors porté sur papier chromatographique Whatmann n° 1.

L'acide perchlorique attaque moins les bases puriques que ne le fait l'acide formique, d'autre part, il détruit complétement les polysaccharides qui peuvent être présents sous forme d'impuretés. La révélation chromatographique est alors plus nette, la séparation des spots plus facile et on élimine ainsi toute possibilité de perte en cours de migration.

b) Séparation chromatographique des bases :

MARKHAM et SMITH ont montré que les solvants contenant des proportions élevées d'acide chlorydrique peuvent être utilisés pour la résolution quantitative des hydrolysats d'acide nucléiques. Le solvant chromatographique utilisé a pour formule :

Isopropanol à 95 %	68 ml.
H Cl (D = 1,19)	17 ml.
Eau distillée	15 ml.

Ce solvant doit être préparé extemporanément.

De faibles quantités d'hydrolysat (10 mm3) sont déposées sur papier Whatmann n° 1 et les chromatogrammes sont réalisés par la méthode descendante jusqu'à obtenir un front de 40 à 45 cm, ce qui nécessite une migration de 24 heures en

.../...

moyenne. Il est nécessaire d'opérer à température constante pour obtenir une séparation satisfaisante. Les chromatogrammes sont alors mis à sécher pendant une nuit. Il est en effet indispensable d'éliminer l'acide chlorydrique avant de les exposer aux rayons ultra-violets pour éviter l'oxydation des bases, surtout de cytosine.

La détection des spots est effectuée en plaçant le chromatogramme sous une lampe à ultra-violets (Universal UV Lampe Camag) en opérant à 250 mμ . Cette technique très sensible est rapide car elle permet la localisation directe des bases sur le chromatogramme.

Les spots étant déssinés sur les chromatogrammes, on les découpe ainsi que des "blancs" qui serviront de témoin. Spots et témoins sont élués dans des tubes en présence de 5ml. d'acide chlorydrique N/10. Au bout de 24 heures les éluats sont lus au spectrophotomètre. Les densités optiques des éluats obtenus sont lues aux longueurs d'onde d'absorption maximum, c'est-à-dire pour :

- Adénine à 262,5 mμ
- Guanine à 249 mμ
- Cytosine à 275 mμ
- Thymine à 264,5 mμ

et également à la longueur d'ondes de référence r = 290 mμ.

Pour chaque base on calcule la différence entre la valeur de la densité optique à la longueur d'ondes maximum et à la longueur d'ondes de référence r. On réduit du chiffre obtenu la moyenne des valeurs obtenues à ces mêmes longueurs d'onde pour les deux témoins blancs correspondants. On obtient ainsi la "densité optique corrigée" de la substance. En divisant cette valeur par un coefficient propre à chaque substance (qui tient compte du poids moléculaire et de l'extinction mollécu-laire) on obtient le nombre de molécules contenues dans une tache donnée et on calcule, pour chaque tache le pourcentage en base. Le GC% et les rapports $\frac{A + T}{G + C}$ sont alors établis. La

.../...

moyenne de ces différentes valeurs est ensuite calculée. On peut ainsi détecter et doser les bases provenant de 0,5 à 1 mg. d'A. D. N. avec une précision suffisante.

D'autres méthodes de dosage ont été récemment décrites en particulier celle de W. SZYBALSKI (53) qui utilise une technique de centrifugation en gradient de densité, l'équilibre étant obtenu dans du sulfate de césium. Cette méthode séduisante qui demande un appareillage lourd ne semble pas donner des résultats très différents (au point de vue GC %) de ceux que nous avons obtenus.

- 0 -

G R O U P E A

C A R A C T E R E S B A C T E R I O L O G I Q U E S

14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	I	N° des Souches
N	V	V	N	V	N	V	N	V	N	N	N	N	N	Gram
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Mobilité
0	0	0	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	Capsule
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Pouvoir gazogène
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Odeur
A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	Type respiratoire
30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	Température optimale de croissance
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Culture à 42° C
+ (Ac.)	+ (Ac.)	+ (Ac.)	+ (Ac.)	+ (Ac.)	+ (Ac.)	+ (Ac.)	+ (Ac.)	+ (Ac.)	+ (Ac.)	+ (Ac.)	+ (Ac.)	+ (Ac.)	+ (Ac.)	Hugh et Leifson
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Rouge de Méthyle
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Voges Proskauer
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu n°1 Mannose
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu n°2
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu n°1 Glucose
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu n°2
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu n°1 Galactose
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu n°2
+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	–	+	+	Milieu n°1 Arabinose
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu n°2
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu n°1 Xylose
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu n°2

14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	N° des Souches
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1 Levulose Milieu n° 2
–	–	+	–	+	–	+	–	–	–	–	–	+	–	
+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1 Amidon Milieu n° 2
–	–	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1 Lactose 1% Milieu n° 2
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu n° 1 Lactose 10 % Milieu n° 2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1 Maltose Milieu n° 2
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1 Saccharose Milieu n° 2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1 Mannitol Milieu n° 2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1 Dulcitol Milieu n° 2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1 Glycerol Milieu n° 2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Indole
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Nitrate
–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	Gélatine
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	H2 S
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu à l'alcool
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu de Simmons
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Catalase

14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	N° des Souches
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Oxydase
+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	Uréase
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	L.D.C.
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	T.D.A.
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Lipase
–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	Hémolyse
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Pénicilline 2U
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Pénicilline 10U
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Oxacilline
R	R	S	R	S	R	R	R	R	S	R	R	S	R	Chloramphénicol
I	I	S	I	S	S	S	S	S	S	S	I	S	I	Tétracycline
R	R	S	S	S	S	I	I	I	I	S	I	I	I	Streptomycine
R	I	S	I	I	I	S	S	I	I	I	I	I	I	Erythromycine
R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Sulfapyridine
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Furadoïne

E T U D E D E S A. D. N.

SOUCHE N° : 1
ORIGINE : Institut P steur n° 5290
Pourcentage d' A. D. N. : 37,5 %
Poids d'A. D. N. : 25 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	19,15	32,27	17,19	31,39	36,34	1,75
	18,92	32,08	17,59	31,41	36,51	1,73
	20,23	30,95	20,40	28,42	40,63	1,46
	20,17	30,57	18,40	30,86	38,57	1,59
	22,12	29,71	20,39	27,78	42,51	1,35
	19,04	30,69	18,48	31,79	37,52	1,66
Moyenne des bases	19,93	31,04	18,74	30,27		
Moyenne GC%					38,68	

SOUCHE N° 2

ORIGINE : Institut Pasteur n° 5367

Pourcentage d'A. D. N. : 57 %

Poids d'A. D. N. : 30 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	20,06	32,25	17,61	30,08	37,67	1,65
	21,52	31,24	18,25	28,99	39,77	1,51
	20,31	31,72	18,15	29,80	38,46	1,59
	19 89	31,03	18,33	30,75	38,22	1,61
	20,84	30,82	18,97	29,37	39,81	1,51
	22,15	30,28	20,58	27,99	41,73	1,39
Moyenne des bases	20,79	31,22	18,64	29,66		
Moyenne GC %					39,27	

SOUCHE N° : 3

ORIGINE : Collection du laboratoire, Souche étiquetée Bacterium Anitratum

Pourcentage d'A. D. N. : 40 %

Poids d'A. D. N. : 20 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	20,15	28,84	19,66	31,35	39,81	1,51
	19,51	29,14	19,03	32,32	3 ,54	1,59
	19,96	28,72	19,20	32,12	39,16	1,55
	19,51	30,75	18,43	31,31	37,94	1,63
	19,83	29,36	20,32	30,49	40,15	1,49
	19,45	29,17	20,03	31,35	39,48	1,53
Moyenne des bases	19,73	29,33	19,44	31,49		
Moyenne GC %					39,18	

SOUCHE N° : 4

ORIGINE : Souche isolée de la terre étiquetée Moraxella Winogradsky

Pourcentage d'A. D. N. : 22 %

Poids d'A. D. N. : 18 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	18,15	30,18	20,20	31,47	38,35	1,60
	19,94	29,73	20,21	30,12	40,15	1,49
	18,67	30,14	20,24	30,95	38,91	1,56
	19,62	30,13	19,92	31,05	39,80	1,51
	19,03	31,00	19,54	30,43	38,57	1,58
Moyenne des bases	19,21	30,05	20,00	30,72		
Moyenne GC %					39,22	

SOUCHE N° : 5

ORIGINE : Urinaire

Pourcentage d'A. D. N. : 30 %

Poids d'A. D. N. : 15 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	19,15	29,52	20,58	30,75	39,73	1,51
	18,74	30,13	18,13	32,35	37,52	1,66
	20,02	29,28	20,25	30,45	40,27	1,48
	19,54	30,31	19,61	30,54	39,15	1,55
	19,15	30,62	19,31	30,92	38,46	1,60
	19,43	29,17	20,48	30,92	39,91	1,58
Moyenne des bases	19,33	29,82	19,83	30,98		
Moyenne GC %					39,17	

SOUCHE N° : 6

ORIGINE : Faculté de Pharmacie de Nancy

POURCENTAGE d'A. D. N. : 20 %

POIDS d'A. D. N. : 32 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	20,16	30,88	19,25	29,71	39,41	1,53
	20,61	31,03	18,46	28,90	39,07	1,53
	20,54	30,95	18,79	29,72	39,33	1,54
	19,97	30,75	18,55	30,73	38,52	1,59
	20,98	31,63	19,05	28,34	40,03	1,49
	20,04	31,13	19,58	29,25	39,62	1,52
Moyenne des bases	20,38	31,06	18,94	29,44		
Moyenne GC %					39,33	

SOUCHE N° : 7

ORIGINE : Faculté de Pharmacie de Montpellier

POURCENTAGE d'A. D. N. : 37 %

POIDS d'A. D. N. : 8 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	20,15	29,52	19,21	31,12	39,36	1,54
	19,61	30,43	19,13	30,83	38,74	1,57
	19,95	30,03	19,16	30,86	39,11	1,55
	19,75	29,94	19,64	30,67	39,39	1,53
Moyenne des bases	19,84	29,98	19,28	30,87		
Moyenne GC %					39,15	

SOUCHE N° : 8

ORIGINE : N° 7013 (Professeur Brizou)

POURCENTAGE d'A. D. N. : 23 %

POIDS d'A. D. N. : 12 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	20,23	30,15	18,54	31,08	38,77	1,579
	20,08	29,93	19,74	30,25	39,82	1,511
	20,06	29,51	19,91	30,52	39,97	1,501
Moyenne des bases	20,12	29,86	19,39	30,61		
Moyenne GC %					39,52	

SOUCHE N° : 9

ORIGINE : Souche isolée de l'eau au laboratoire

POURCENTAGE d' A. D. N. : 35 %

POIDS d' A. D. N. : 20 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A+T}{G+C}$
	20,11	29,33	19,14	31,42	39,25	1,547
	20,37	29,47	19,78	30,38	40,15	1,490
	18,98	30,22	19,66	31,14	38,64	1,587
	18,53	30,17	19,42	31,88	37,95	1,635
	19,42	30,09	20,18	30,31	39,60	1,525
	19,15	30,03	19,38	30,93	39,04	1,561
Moyenne des bases	19,42	29,55	19,67	31,01		
Moyenne GC %					39,10	

SOUCHE N° : 10

ORIGINE : N° 6511 (Professeur Brizou)

POURCENTAGE d'A. D. N. : 30 %

POIDS d'A. D. N. : 6 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	19,33	28,34	20,42	31,91	39,75	1,515
	18,71	29,14	20,25	31,90	38,96	1,566
	19,14	30,17	19,99	30,70	39,13	1,555
Moyenne des bases	19,06	29,21	20,22	31,50		
Moyenne GC %					39,28	

SOUCHE N° : 11

ORIGINE : Vaginale

POURCENTAGE d'A. D. N. : 42 %

POIDS d'A. D. N. : 22 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	19,89	29,22	20,32	30,57	40,21	1,48
	17,74	31,43	20,68	30,15	38,42	1,59
	18,52	30,21	20,73	30,54	39,25	1,54
	18,61	29,34	21,47	30,54	40,08	1,49
	18,15	30,96	19,01	31,88	37,16	1,68
	19,24	30,52	20,30	29,94	39,54	1,52
Moyenne des bases	18,69	30,28	20,46	30,61		
Moyenne GC %					39,11	

SOUCHE N ° : 12

ORIGINE : Rhino-pharynx

POURCENTAGE d'A. D. N. : 28 %

POIDS d'A.D.N. : 12 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	19,81	29,45	19,31	31,43	39,12	1,55
	20,01	30,36	18,73	30,90	38,74	1,58
	19,87	29,88	19,15	31,10	39,02	1,56
	20,57	28,68	19,51	31,24	40,08	1,49
Moyenne des bases	20,06	29,59	19,17	31,16		
Moyenne GC %					39,24	

SOUCHE N° : 13

ORIGINE : Isolée à Alger en 1961

POURCENTAGE d' A. D. N. : 36 %

POIDS d' A. D. N. : 10 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	19,74	29,18	19,39	31,69	39,13	1,55
	18,43	30,81	20,32	30,44	38,75	1,58
	19,85	30,02	19,67	31,46	39,52	1,53
	20,12	29,98	19,84	30,06	39,96	1,50
Moyenne des bases	19,51	29,99	19,80	30,91		
Moyenne GC %					39,34	

SOUCHE N° : 14

ORIGINE : BRNO n° 5566

POURCENTAGE d'A. D. N. : 50 %

POIDS d' A. D. N. : 8 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	19,24	30,14	19,81	30,81	39,05	1,56
	19,71	30,72	19,38	30,19	39,09	1,55
	19,87	29,92	20,02	30,19	39,89	1,50
	18,75	31,03	19,30	30,92	38,05	1,62
	18,52	31,32	20,23	29,93	38,75	1,58
	19,22	30,15	20,01	30,62	39,23	1,54
Moyenne des bases	19,21	30,54	19,79	30,44		
Moyenne GC %					39,01	

SOUCHE N° : 15

ORIGINE : N° 6406 (Professeur Brizou)

POURCENTAGE D'A. D. N. : 25 %

POIDS D'A. D. N. : 12 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC%	$\frac{A + T}{G + C}$
	19,15	30,35	18,76	31,74	37,91	1,63
	20,61	30,76	18,91	29,72	39,52	1,53
	21,02	29,62	18,49	30,87	39,51	1,53
Moyenne des bases	20,26	30,24	18,72	30,77		
Moyenne GC %					38,98	

DESCRIPTION DES CARACTERES BACTERIOLOGIQUES
DES 15 SOUCHES ETIQUETEES COMME :

Moraxella glucidolytica)
Acinetobacter anitratum (
Bacterium anitratum) Groupe A
B5W (

MILIEUX D'ISOLEMENT ET DE CULTURE

Ce qui caractérise la croissance de ces microorganismes est leur aptitude à se dév.lopper sur des milieux très simples : Bouillon ordinaire

Gelose ordinaire et même sur des milieux très pauvres tel que le milieu à alcool.

Ils sont en effet fréquemment rencontrés dans le sol et les eaux et ont une vocation de saprophytes des cavités naturelles de l'homme et des animaux, cependant sous l'effet d'une rupture d'équilibre entre le germe et l'hôte (administration d'antibiotiques) ils peuvent acquérir une certaine virulence.

MORPHOLOGIE

Les souches de ce groupe montrent une morphologie très caractéristique.

Ce sont des bactéries toujours immobiles (en contraste de phase) non ciliées, ne présentant jamais de spores. Leurs dimensions sont très variables et ne permettent pas de définir une taille caractéristique. Assez souvent capsulées : capsules minces ou épaisses donnant un aspect muqueux aux colonies et un aspect sirupeux aux cultures liquides.

Bien que classiquement décrites comme bactéries Gram négatives elles se décolorent lentement et peuvent être surtout considérées comme Gram variable. Certaines souches sont d'ailleurs d'emblée Gram positif.

.../...

La forme prédominante est le diplobacille court simulant quelquefois des diplocoques si bien que certains auteurs les rapprochent du genre Neisseria (N. Winogradsky) mais la division se fait par étranglement et dans une seule direction , de ce fait, on ne rencontre jamais (et cela est très utile pour détecter d'éventuelles souillures) de tétrades.

Qu'il s'agisse de coccobacilles ou de bacilles les extrémités sont nettement arrondies.

A côté de cette association typique on peut voir des filaments plus ou moins longs, des chaînettes, c'est le polymorphisme caractéristique de cette espèce. Notons à ce sujet, comme le fait Henriksen que ce polymorphisme est plus fréquent lorsqu'on cultive les souches à 37° C. Bien entendu, les variations morphologiques sont encore plus prononcées :

En fonction des milieux de cultures :
- en bouillon : majorité de formes coccobacillaires
- en gélose : majorité de formes bacillaires

En fonction de la phase de croissance :
- coccobacille en phase exponentielle, formes d'involution après.

ASPECT DES CULTURES

En bouillon ordinaire le trouble obtenu est très important (avec présence d'ondes moirées). En 24 heures, un voile peut se former ou bien le milieu s'éclaircit avec dépôt floconneux ou filant.

En gélose ordinaire les colonies sont rondes, lisses, convexes, à bords nets et réguliers de taille relativement importante (diamètre de 1,5 mm à 3 mm). Blanchâtre légèrement opaque.

PHYSIOLOGIE

Ce sont des aérobies stricts comme en témoigne la croissance exclusive en surface dans la gélose profonde. La température optimale de croissance se situe entre 30° C et 37° C mais

.../...

leur culture est toujours possible à 5° C et 42° C. La survie des cultures est particulièrement longue.

ACTION SUR LES GLUCIDES

L'utilisation des glucides est recherchée :

1°) Sur un milieu complexe contenant des protéines (mil.1)
2°) Sur un milieu simple ou la seule source de carbone est le sucre étudié (mil.2)
3°) Sur milieu de Hugh et Leifson

Cette étude montre :

- que le métabolisme glucidique est oxydatif pur.
- que seules ces souches utilisent les sucres quand ils sont présents dans les milieux complexes contenant des protéines (mil.1) c'est ainsi qu'ils agissent sur le : mannose, glucose, galactose, arabinose, xylose à 1 %, le lactose à 10 %
- que les mêmes sucres sont utilisés sur le mileu 2 avec une extension du pouvoir glucidolytique à d'autres glucides : utilisation variable du lévulose, plus importante de l'amidon, pour 100 % des souches du lactose à 1% et du maltose. (Tableau IV)

Les réactions du rouge de méthyle et de Voges Proskauer sont toujours négatives.

Quant à l'utilisation du citrate sur milieu de Simmons elle est positive.

ACTION SUR LES PROTEINES

Toutes les souches sont Indole négatives, ne réduisent pas les nitrates en nitrites, ne produisent pas d'hydrogène sulfuré.

.../...

Elles ne liquéfient généralement pas la gélatine et le serum coagulé ; les souches protéolytiques doivent être considérées comme l'exception donc comme de simples variétés.

ACTION ENZYMATIQUE

Toutes les souches sont catalase: positive, oxydase : négative, LDC : négative, tryptophane désaminase : négative. L'uréase est généralement positive (12 souches sur 15) la lipase extracellulaire est quant à elle toujours positive. Ces souches révèlent rarement une activité hémolytique.

ACTION DES ANTIBIOTIQUES

Comme le montre le tableau (V) tous ces microorganismes comportent une proportion importante de souches résistantes.

100 % de souches résistantes à la pénicilline
100 % de souches résistantes à l'oxacilline
100 % de souches résistantes à la furadoïne
66 % de souches résistantes au chloramphénicol.

Au point de vue thérapeutique elles sont par contre sensibles aux antibiotiques de la famille des tétracyclines et aux sulfamides. L'action de la streptomycine et de l'érythromycine est variable. Cet antibiotype semble assez caractéristique et individualise le groupe.

ETUDE DU GC %

L'étude de la composition en bases de l'A.D.N. et la détermination du GC % sont reportées dans le tableau (I).

Sur 15 résultats expérimentaux réalisés sur cette espèce 9 répondent à la valeur vraie, calculée par la déviation standard et l'écart de la moyenne.

Le GC % de l'espèce type est de : $39,17 \pm 0,11$. Un seul résultat, celui de la souche n°1, nous semble aberrant.

.../...

Nous pouvons donc conclure à une parfaite homogénéité du groupe A les variations morphologiques, physiologiques, et biochimiques étant par ailleurs négligeables. (tableau VII)

Ce groupe correspond à une seule espèce : Moraxella glucidolytica

- o -

TABLEAU N° I

INTERPRETATION STATISTIQUE DES RESULTATS DU GROUPE A

N°	X	$(X-\bar{x})$	$(X-\bar{x})^2$	N°	X	$(X-\bar{x})$	$(X-\bar{x})^2$
1	38,68	0,49	0,2401	4	39,22	0,05	0,0025
15	38,98	0,19	0,0361	12	39,24	0,07	0,0049
14	39,01	0,16	0,0256	2	39,27	0,10	0,0100
9	39,10	0,07	0,0049	10	39,28	0,11	0,0121
11	39,11	0,05	0,0025	6	39,33	0,16	0,0256
7	39,15	0,02	0,0004	13	39,34	0,17	0,0289
5	39,17	0,00	0,0000	8	39,52	0,35	0,1225
3	39,18	0,01	0,0001				

TOTAL $(X-\bar{x})^2 = 0,5162$ Nombre des mesures = 15

Moyenne arithmétique $\bar{x} = 39,17$

Ecart type : $s = \sqrt{\frac{\Sigma (X-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0,5162}{14}} = 0,19$

Ecart type de la moyenne arithmétique :

$$s' = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0,19}{3,87} = 0,05$$

Rapport $/s = 2,2$

$$39,17 - 0,11 \leqslant \text{Valeur vraie} \leqslant 39,17 + 0,11$$

G R O U P E B

C A R A C T E R E S B A C T E R I O L O G I Q U E S

25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	N° des Souches
V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	Gram
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Mobilité
0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	Capsule
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Pouvoir Gazogène
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Odeur
A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	Type respiratoire
30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	Température optimale de croissance
+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	Culture à 42° C.
+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	Hugh et Leifson
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Rouge de Méthyle
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Voges Proskauer
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1
+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	Mannose Milieu n° 2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1
+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	Glucose Milieu n° 2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1
+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	Galactose Milieu n° 2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1
+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	Arabinose Milieu n° 2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	Milieu n° 1
+	+	+	+	–	+	+	+	–	–	Xylose Milieu n° 2

25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	N° des Souches
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Lévulose
+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Amidon
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Lactose 1%
-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Lactose 10%
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Maltose
-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Saccharose
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Mannitol
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Dulcitol
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Glycerol
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Indole
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Nitrate
-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	Gélatine
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H2 S
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu à l'alcool
-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	Milieu de Simmons
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Catalase

25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	N° des Souches
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Oxydase
+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	Uréase
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L.D.C.
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T.D.A.
+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	Lipase
-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	Hémolyse
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Pénicilline 2 U
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Pénicilline 10U
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Oxacilline
S	S	I	S	S	S	S	S	I	S	Chloramphénicol
S	S	I	I	S	S	S	S	S	S	Tétracycline
S	S	R	R	S	I	I	S	S	R	Streptomycine
S	I	S	S	S	S	S	S	I	I	Erythromycine
S	S	R	S	S	R	R	S	S	R	Sulfapyridine
R	R	R	R	R	R	S	I	R	R	Furadoïne

35	34	33	32	31	30	29	28	27	26	N° des Souches
V	-	V	V	V	V	V	V	V	V	Gram
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Mobilité
+	+	0	0	0	0	0	0	+	0	Capsule
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pouvoir gazogène
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Odeur
A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	Type respiratoire
30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	30-37	Température optimale de croissance
+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	Culture à 42° C
+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	Hugh et Leifson
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Rouge de Méthyle
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Voges Proskauer
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Mannose Milieu n° 1
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Mannose Milieu n° 2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Glucose Milieu n° 1
+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	Glucose Milieu n° 2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Galactose Milieu n° 1
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Galactose Milieu n° 2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Arabinose Milieu n° 1
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Arabinose Milieu n° 2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Xylose Milieu n° 1
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Xylose Milieu n° 2

35	34	33	32	31	30	29	28	27	26	N° des Souches
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Lévulose
+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Amidon
+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Lactose 1%
+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Lactose 10%
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Maltose
-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Saccharose
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Mannitol
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Dulcitol
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°1 Glycerol
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu n°2
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Indole
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Nitrate
-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	Gélatine
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H2 S
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Milieu à l'alcool
+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	Milieu de Simmons
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Catalase

35	34	33	32	31	30	29	28	27	26	N° des Souches
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Oxydase
-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	Uréase
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L.D.C.
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T.D.A.
+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	Lipase
-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	Hémolyse
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Pénicilline 2U
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Pénicilline 10 U
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Oxacilline
R	I	I	S	S	S	S	S	I	S	Chloramphénicol
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Tétracycline
S	R	S	I	S	S	S	S	S	S	Streptomycine
S	S	I	S	S	S	S	R	I	S	Erythromycine
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Sulfapyridine
R	R	R	I	I	R	I	R	R	R	Furadoïne

E T U D E D E S A. D. N.

SOUCHE N° : 16

ORIGINE : Institut Pasteur n° 5382

POURCENTAGE D'A. D. N. : 23 %

POIDS d'A.D.N. : 5mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	20,55	30,14	21,30	28,01	41,85	1,38
	21,34	29,70	21,18	27,78	42,52	1,35
	21,03	29,92	20,14	28,91	41,17	1,42
oyenne es bases	20,97	29,92	20,87	28,23		
oyenne GC %					41,84	

SOUCHE N° : 17

ORIGINE : Institut Pasteur n°53.111

POURCENTAGE D'A. D. N. : 82 %

POIDS d' A. D. N. : 25 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	20,34	31,35	17,67	30,64	38,01	1,63
	20,91	30,72	18,54	29,83	39,45	1,53
	20,63	31,22	18,29	29,86	38,92	1,56
	19,91	32,03	17,79	30,27	37,70	1,65
	20,12	31,28	18,01	30,59	38,13	1,62
	20,57	30,95	17,26	31,22	37,83	1,64
	21,32	29,64	20,36	28,78	41,58	1,40
	20,09	29,82	20,47	29,62	40,56	1,46
	20,15	29,75	20,62	29,49	40,76	1,45
Moyenne des bases	20,44	30,75	18,77	30,03		
Moyenne GC %					39,21	

SOUCHE N° : 18

ORIGINE : Urinaire

POURCENTAGE d'A. D. N. : 46 %

POIDS d'A. D. N. : 39 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	21,82	29,52	19,56	29,10	41,38	1,41
	21,12	30,18	19,98	28,72	41,10	1,43
	21,53	29,56	19,57	29,34	41,10	1,43
	20,94	29,40	20,22	29,44	41,16	1,42
Moyenne des bases	21,28	29,78	19,94	29,00		
Moyenne GC %					41,22	

SOUCHE N° : 19

ORIGINE : Faculté de Pharmacie de Montpellier

POURCENTAGE D'A. D. N. : 35 %

POIDS d' A. D. N. : 6 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A+T}{G+C}$
	22,11	36,55	20,22	21,12	42,33	1,36
	22,83	29,32	20,57	27,28	43,40	1,30
Moyenne des bases	22,47	32,93	20,39	24,20		
Moyenne GC %					42,86	

SOUCHE N° : 20

ORIGINE : Faculté de Pharmacie de Montpellier

POURCENTAGE D' A. D. N. : 30,5 %

POIDS d' A. D. N. : 28 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	23,15	29,11	20,62	27,12	43,77	1,28
	22,51	28,78	21,88	26,83	44,39	1,27
	22,17	28,81	20,88	28,14	43,05	1,32
	23,68	27,98	20,66	27,68	44,34	1,25
Moyenne des bases	22,88	28,67	21,01	27,43		
Moyenne GC %					43,89	

SOUCHE N° : 21

ORIGINE : Institut Pasteur n° 5.111

POURCENTAGE d'A. D. N. : 22 %

POIDS D' A. D. N. : 12 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	A + T / G + C
	22,82	32,04	20,29	24,85	43,11	1,31
	21,24	30,21	20,74	27,81	41,98	1,38
	21,13	29,97	20,02	28,88	41,15	1,43
Moyenne des bases	21,73	30,74	20,35	27,18		
Moyenne GC %					42.08	

SOUCHE N° : 22

ORIGINE : Institut Pasteur n° 5114

POURCENTAGE d'A. D. N. : 30 %

POIDS D' A. D. N. : 25 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	A / G
	19,95	30,15	20,38	29,52	40,33	1,47
	19,54	28,91	21,36	30,19	40,90	1,44
	19,82	29,51	20,18	30,49	40,00	1,50
	20,58	28,63	21,52	29,27	42,10	1,37
	19,61	28,14	20,89	31,36	40,50	1,47
	19,95	29,02	21,42	29,61	41,37	1,41
Moyenne des bases	19,90	29,06	20,95	30,07		
Moyenne GC %					40,85	

SOUCHE N° : 23

ORIGINE : Institut Pasteur n° 1535

POURCENTAGE d' A. D. N. : 16 %

POIDS d'A. D. N. : 22mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	20,11	28,93	20,15	30,81	40,26	1,48
	19,92	29,02	20,96	30,10	40,88	1,44
	18,74	27,77	22,98	30,51	41,72	1,39
	17,46	28,43	21,70	32,41	39,16	1,55
Moyenne des bases	19,05	28,53	21,44	30,95		
Moyenne GC %					40,50	

SOUCHE N° : 24

ORIGINE : Institut Pasteur n°6410

POURCENTAGE d' A. D. N. : 25 %

POIDS D' A. D. N. : 8 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	21,32	29,60	20,62	28,46	41,94	1,38
	23,12	27,24	19,93	29,71	43,05	1,32
	20,84	29,70	20,52	28,94	41,36	1,41
	23,51	27,04	20,38	29,07	43,89	1,27
Moyenne des bases	22,19	28,39	20,38	29,04		
Moyenne GC %					42,56	

SOURCE N° : 25

ORIGINE : American type culture n° 17.985

POURCENTAGE d' A. D. N. : 38 %

POIDS d' A. D. N. : 7 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	21,36	28,54	21,91	28,19	43.27	1,31
	20,87	28,32	22,09	28,72	42,96	1,32
	22,03	27,75	22,36	27,86	44,39	1,25
	20,54	28,07	22,12	29,27	42,66	1,34
Moyenne des bases	21,20	28,17	22,12	28,51		
Moyenne GC %					43,32	

SOUCHE N° : 26

ORIGINE : National Culture of London n° 5867

POURCENTAGE D' A. D. N. : 20 %

POIDS D' A. D. N. : 8 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	24,12	28,94	19,93	27,01	44,05	1,26
	22,48	29,15	20,15	28,22	42,63	1,34
	22,34	29,06	19,68	28,92	42,02	1,38
Moyenne des bases	22,98	29,05	19,92	28,05		
Moyenne GC %					42,90	

SOUCHE N° : 27

ORIGINE : Enfant S. Hôpital de Montauban

POURCENTAGE d' A. D. N. : 25 %

POIDS d' A. D. N. : 10 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	21,15	29,78	19,18	29,89	40,33	1,47
	20,71	30,36	20,52	28,41	41,23	1,42
	20,87	29,82	19,19	30,12	40,06	1,49
Moyenne des bases	20,91	29,99	19,63	29,47		
Moyenne GC %					40,54	

SOUCHE N° : 28

ORIGINE : CZECHOSLOVAK COLLECTION OF MICROORGANISMS BRNO - CCM 1976

POURCENTAGE D' A. D. N. : 32 %

POIDS D' A. D. N. : 5 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	20,32	31,46	18,92	29,30	39,24	1,52
	21,51	31,08	19,21	28,20	40,72	1,45
	20,21	30,83	19,56	29,40	39,77	1,51
Moyenne des bases	20,68	31,12	19,23	28,97		
Moyenne GC %					39,91	

SOUCHE N° 29

ORIGINE : Faculté de Médecine de Montpellier

POURCENTAGE D' A. D. N. : 25 %

POIDS D' A. D. N. : 10 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	22,82	28,75	20,81	27,62	43,63	1,29
	22,01	28,67	20,76	28,56	42,77	1,33
	22,33	29,52	20,18	27,97	42,51	1,35
Moyenne des bases	22,39	28,98	20,58	28,05		
Moyenne GC %					42,97	

SOUCHE N° : 30

ORIGINE : Faculté de Médecine de Montpellier

POURCENTAGE d' A. D. N. : 33 %

POIDS D' A. D. N. : 5 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	23,02	30,41	20,20	26,37	43,22	1,31
	21,74	31,63	20,52	26,11	42,26	1,36
Moyenne des bases	22,38	31,02	20,36	26,24		
Moyenne GC %					42,74	

SOUCHE N° : 31

ORIGINE : Faculté de Pharmacie de Montpellier

POURCENTAGE D'A. D. N. : 18 %

POIDS D' A. D. N. : 12 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	22,08	28,94	21,07	27,91	43,15	1,31
	21,83	30,22	19,14	28,81	40,97	1,44
	23,77	29,31	19,64	27,28	43,41	1,30
Moyenne des bases	22,56	29,49	19,95	28,00		
Moyenne GC %					42,51	

SOUCHE Nº : 32

ORIGINE : CENTRE INTERNATIONAL DE DISTRIBUTION DE SOUCHES ET D'INFORMATIONS SUR LES TYPES MICROBIENS

POURCENTAGE D' A. D. N. : 25 %

POIDS D' A. D. N. : 5 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	21,60	29,78	20,35	28,27	41,95	1,38
	22,02	28,54	21,51	27,93	43,53	1,29
Moyenne des bases	21,81	29,16	20,93	28,10		
Moyenne GC %					42,74	

SOUCHE N° : 33

ORIGINE : Enfant Pecc. (Hôpital de Montauban)

POURCENTAGE D' A. D. N. : 30 %

POIDS D' A. D. N. : 8 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	20,69	30,02	19,83	29,46	40,52	1,46
	20,23	31,54	20,89	27,34	41,12	1,43
	21,48	30,93	19,94	27,65	41,42	1,41
Moyenne des bases	20,80	30,83	20,22	28,15		
Moyenne GC %					41,02	

SOUCHE N° : 34

ORIGINE : Enfant Mar. (Hôpital de Montauban)

POURCENTAGE d' A. D. N. : 33 %

POIDS d'A. D. N. : 18 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	18,78	30,64	21,17	29,41	39,95	1,50
	19,24	29,65	21,79	29,32	41,03	1,43
	20,03	32,27	20,25	27,45	40,28	1,48
Moyenne des bases	19,35	20,85	21,07	28,73		
Moyenne GC %					40,42	

SOUCHE N° : 35

ORIGINE : Enfant Bonn. (Hôpital de Montauban)

POURCENTAGE D' A. D. N. : 25 %

POIDS D' A. D. N. : 10 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	19,91	31,32	19,97	28,80	39,88	1,50
	21,28	30,72	19,97	28,03	41,25	1,42
Moyenne des bases	20,59	31,02	20,04	28,35		
Moyenne GC %					40,63	

DESCRIPTION DES CARACTERES BACTERIOLOGIQUES
DES 20 SOUCHES ETIQUETEES COMME :

Moraxella lwoffi)
Acinetobacter lwoffi (
Moraxella lwoffi var. brevis) Groupe B (B1 et B2)
Moraxella lwoffi var. bactéroïdes (

MILIEUX D'ISOLEMENT ET DE CULTURE

La croissance de ce microorganisme est en tout point identique à celle du groupe A.

MORPHOLOGIE

Nous avons retrouvé pour Moraxella lxoffi var. liquefaciens, var. non liquefaciens, var. brevis, var. bacteroïdes, la morphologie de Moraxella glucidolytica. Ces deux espèces présentent des analogies de structures évidentes et comme nous le verrons pour les autres groupes elles sont à rapprocher morphologiquement des autres Moraxella.

ASPECT DES CULTURES

Bien que la croissance demeure facile on note :

- Sur milieu solide des colonies d'aspect identique mais de taille en général plus réduite (diamètre de 1,5 mm à 2,6 mm)
- En milieu liquide la formation d'un trouble moins important.

PHYSIOLOGIE

Ce sont des aerobies stricts. La température optimale de croissance est identique à celle des souches de Moraxella glucidolytica mais leur culture à 42 ° C et à 5° C n'est pas toujours possible (tableau VI).

.../...

ACTION SUR LES GLUCIDES

L'étude de cette action individualise d'emblée le groupe B1 et B2 du groupe A en effet, les Moraxella lwoffi n'acidifient jamais le milieu 1 (milieu complexe contenant des protéines).

Toutefois, quand ces sucres sont apportés dans le milieu 2 (comme seule source de carbone) l'activité glucidolytique est sensiblement identique à celle de Moraxella glucidolytica. Ces différences apparaissent nettement dans le tableau (IV) qui montre également une diminution de l'activité glucidolytique en particulier pour le lactose à 1 %.

Cette inactivité glucidolytique apparente de Moraxella lwoffi pourrait être due à la neutralisation de l'acidité produite à partir des glucides par l'ammoniaque résultant de l'utilisation des peptones ; cette alcalinisation étant plus particulièrement marquée sur le milieu de Hugh - Leifson rendant impossible la détermination du type fermentaire.

L'utilisation du citrate sur milieu de Simmons est variable selon les souches, ce caractère paraît important sur le plan taxonomique puisqu'il s'accompagne de variations dans les valeurs du GC %.

Les réactions du rouge de méthyle et de Voges Proskauer sont toujours négatives.

ACTION SUR LES PROTEINES

Il n'y a aucune différence avec le groupe précédent quant à l'activité protéolytique. La variété non liquefaciens est toujours dominante.

ACTION ENZYMATIQUE

Toutes les activités enzymatiques précédemment citées sont identiques à celles de Moraxella glucidolytica. Toutefois l'activité uréasique et lipasique sont moins marquées.

.../...

ACTION DES ANTIBIOTIQUES

L'antibiotype de Moraxella lwoffi peut se définir :

- par une résistance complète vis à vis de la pénicilline (100% des souches)
- par une résistance complète vis à vis de l'oxacilline (100% des souches)
- par une résistance variable vis à vis du chloramphénicol.

Au point de vue thérapeutique elles sont sensibles au tétracycline, erythromycine, streptomycine. Voir tableau (V)

L'antibiotype de Moraxella lwoffi est donc sensiblement différent de celui de Moraxella glucidolytica.

ETUDE DU GC %

L'étude de la composition en bases de l'A.D.N. et la détermination du GC % reportées dans les tableaux (II - III) montre une plus grande dispersion des valeurs (39,91 à 43,89) ainsi que l'existance de deux groupes bien individualisés :

- groupe B1 (citrate positif) dont le GC % moyen est de : $40,56 \pm 0,40$ tableau (II)
- groupe B2 (citrate négatif) dont le GC % moyen est de : $42,63 \pm 0,46$ tableau (III)

Ces résultats confirment l'ensemble des caractères bactériologiques précédemment envisagés :

. Utilisation du citrate
. Activité uréasique
. Sensibilité aux antibiotiques : C'est ainsi que le groupe B1 est plus résistant avec :

14 % des souches résistantes au chloramphénicol
14 % des souches résistantes à l'erythromycine
100 % des souches résistantes à la furadoïne.

.../...

Le groupe B2 est plus sensible avec :

0 % des souches résistantes au chloramphénicol
0 % des souches résistantes à l'erythromycine
60 % des souches résistantes à la furadoïne.

Par contre il existe aucune différence significative des valeurs du GC % pour les variétés liquefaciens, non liquefaciens, brevis, bactéroïdes.

L'espèce Moraxella lwoffi bien que toutes les souches étudiées se comportent comme des Moraxella vrais, n'est pas homogène. Il convient de distinguer : (tableau VII)

- Moraxella lwoffi citrate négatif GC % = 42,63
- Moraxella lwoffi citrate positif GC % = 40,56

pour lequel nous proposons l'appellation :
Moraxella lwoffi variété citroalcaligenes.

- 0 -

TABLEAU N° II

INTERPRETATION STATISTIQUE DES RESULTATS DU GROUPE B1

N°	X	$(X-\bar{x})$	$(X-\bar{x})^2$	N°	X	$(X-\bar{x})$	$(X-\bar{x})^2$
28	39,91	0,65	0,4225				
34	40,42	0,14	0,0196				
27	40,54	0,02	0,0004				
35	40,63	0,07	0,0049				
22	40,85	0,29	0,0841				
33	41,02	0,46	0,2116				

TOTAL $(X-\bar{x})^2 = 0,7431$ Nombre de mesures = 6

Moyenne arithmétique $\bar{x} = 40,56$

Ecart type : $s = \sqrt{\frac{\Sigma(X-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0,7431}{5}} = 0,38$

Ecart type de la moyenne arithmétique :

$$s' = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0,38}{2,45} = 0,15$$

Rapport $\varepsilon/s = 2,7$

$$40,56 - 0,40 \ll \text{Valeur vraie} \ll 40,56 + 0,40$$

TABLEAU N° III

INTERPRETATION STATISTIQUE DES RESULTATS DU GROUPE B2

N°	X	$(X-\bar{x})$	$(X-\bar{x})^2$	N°	X	$(X-\bar{x})$	$(X-\bar{x})^2$
18	41,22	1,41	1,9881	32	42,74	0,11	0,0121
16	41,84	0,79	0,6241	19	42,86	0,23	0,0529
21	42,08	0,55	0,3025	26	42,90	0,27	0,0729
31	42,51	0,12	0,0144	29	42,97	0,34	0,1156
24	42,56	0,07	0,0049	25	43,32	0,69	0,4761
30	42,74	0,11	0,0121	20	43,89	1,26	1,5876

TOTAL $(X-\bar{x})^2 = 5,2633$ Nombre de mesures = 12

Moyenne arithmétique $\bar{x} = 42,63$

Ecart type $s = \sqrt{\frac{(X-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{5,2633}{11}} = 0,69$

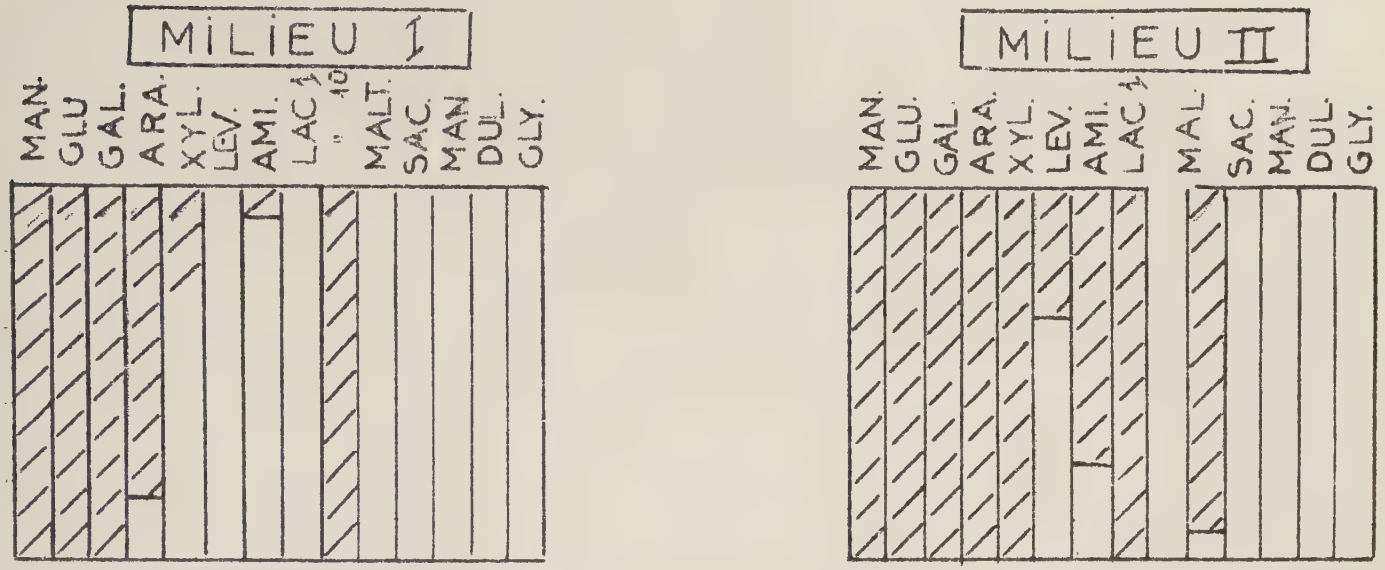
Ecart type de la moyenne arithmétique :

$$s' = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0,69}{3,46} = 0,2$$

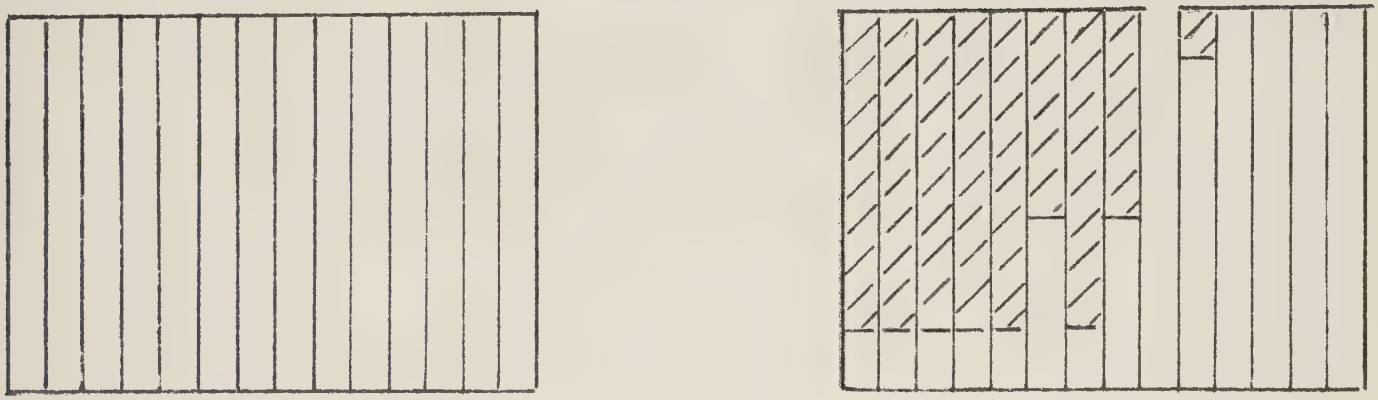
Rapport $\varepsilon/s = 2,3$

$$42,63 - 0,46 \ll \text{Valeur vraie} \ll 42,63 + 0,46$$

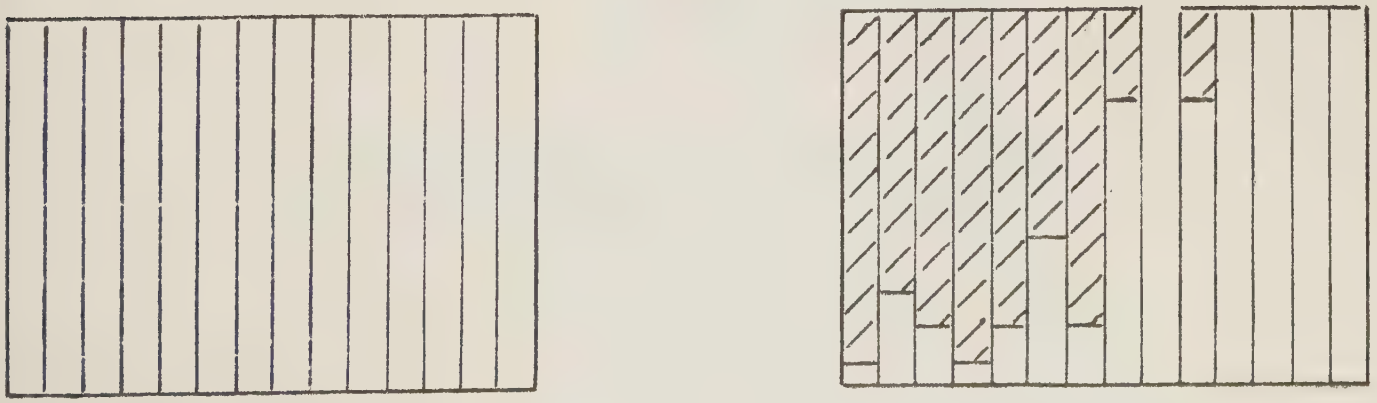
- TABLEAU IV - UTILISATION DES SUCRES -



GROUPE A

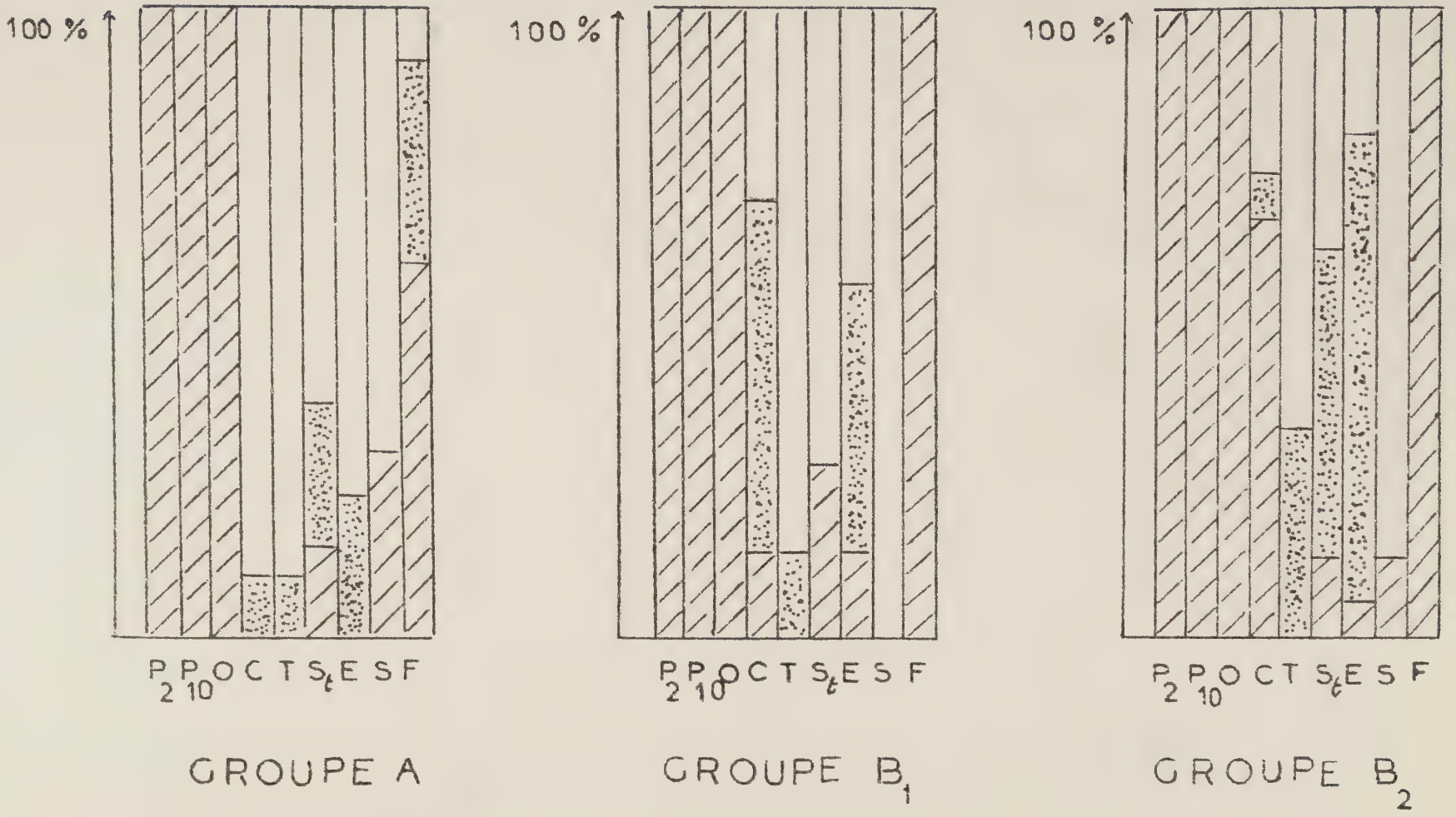


GROUPE B_1



GROUPE B_2

SENSIBLE INTERMÉDIAIRE RESISTANT



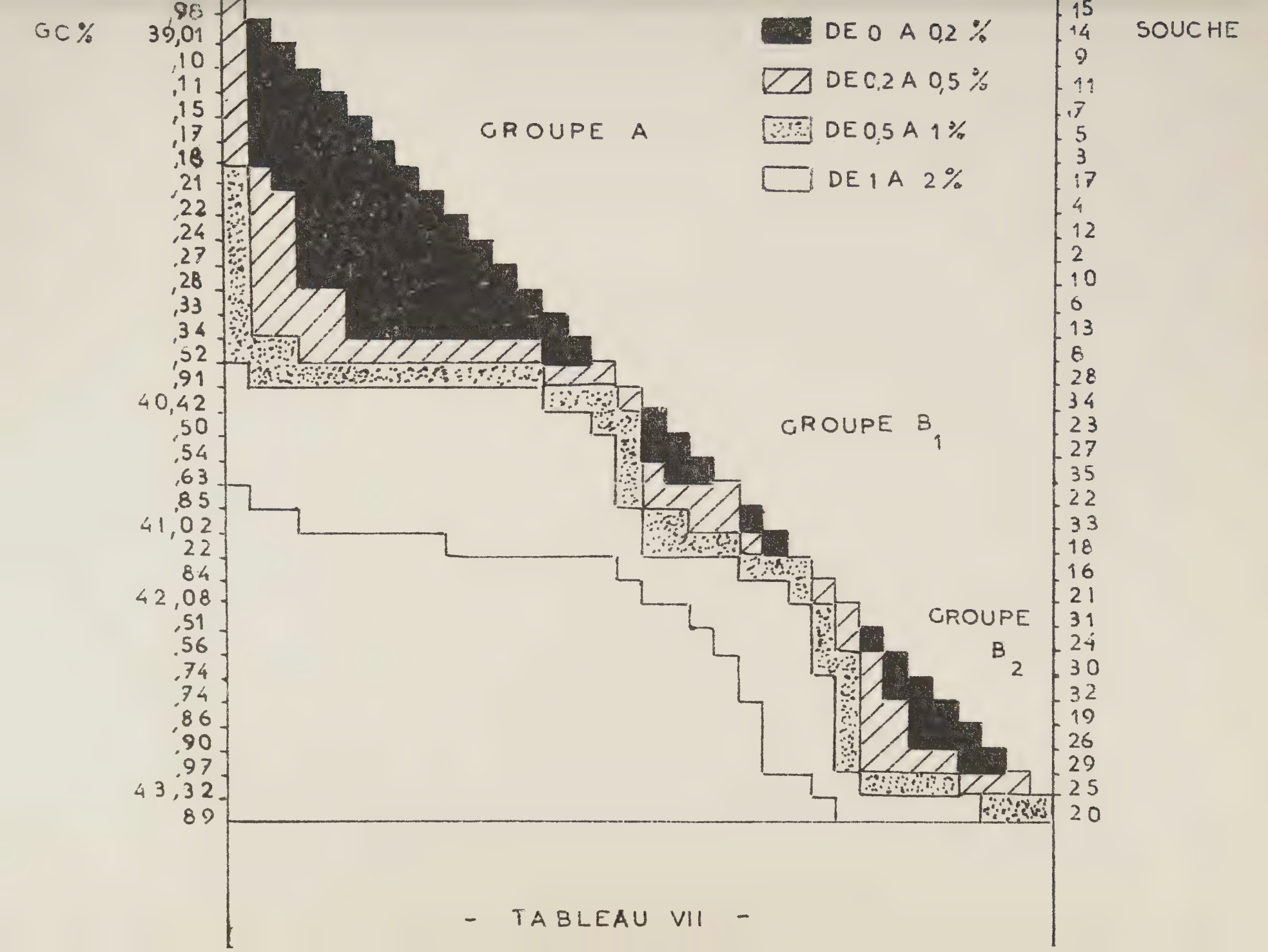
– TABLEAU V – ANTIBIOTYPE –

TABLEAU VI

PRINCIPAUX CARACTERES DIFFERENCIANT

LES GROUPES A (Moraxella glucidolytica)
B1 et B2 (Moraxella lwoffi)

	GROUPE A	GROUPE B1	GROUPE B2
GC % (moyenne)	39,17	40,56	42,63
Production d'acide (en milieu contenant des protéïnes : mil1) à partir du :			
Glucose 1%	+	-	-
Mannose 1%	+	-	-
Galactose 1%	+	-	-
Arabinose 1%	+	-	-
Xylose 1%	+	-	-
Lactose 10%	+	-	-
Culture à 42° C	+ (100%)	+ (85,7%)	+ (76,9%)
Utilisation du citrate comme seule source de carbone	+	+	-
Maltose comme seule source de carbone	+	-	-
Lactose 1% comme seule source de carbone	+ (100%)	+ où - (50%) (50%)	- (80%)
Lipase	+ (100%)	+ (71,4%)	+ (58,5%)
Uréase	(80^{+}%)	(71^{-}_{+},4%)	(61^{+}_{-},5%)
Chloramphénicol	R (66%)	I (57,2%)	S (36,3%)
Furadoïne	R (100%)	R (100%)	R (61,6 %)


GC %
SOUCHE
DE 0 A 0,2 %
DE 0,2 A 0,5 %
DE 0,5 A 1 %
DE 1 A 2 %
GROUPE A
GROUPE B1
GROUPE B2
39,01
40,42
41,02
42,08
43,32
98
10
11
15
17
18
21
22
24
27
28
33
34
52
91
50
54
63
85
84
51
56
74
74
86
90
97
89
15
14
9
11
7
5
3
17
4
12
2
10
6
13
8
28
34
23
27
35
22
33
18
16
21
31
24
30
32
19
26
29
25
20

- TABLEAU VII -

G R O U P E C

C A R A C T E R E S B A C T E R I O L O G I Q U E S

55	54	51	50	44	43	40	39	N° des Souches
-	V	V	-	-	V	-	V	Gram
-	-	-	-	-	-	-	-	Mobilité
-	+	-	-	-	-	-	-	Capsule
-	-	-	-	-	-	-	-	Pouvoir gazogène
-	-	-	-	-	-	-	-	Odeur
A	A	A	A	A	A	A	A	Type respiratoire
33-37	33-37	33-37	33-37	33-37	33-37	33-37	33-37	Température optimale de croissance
+	+	+	+	+	+	+	+	Culture à 42° C
+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	+ (alc)	Hugh et Leifson
-	-	-	-	-	-	-	-	Rouge de Méthyle
-	-	-	-	-	-	-	-	Voges Proskauer
-	-	-	-	-	-	-	-	Mannose
-	-	-	-	-	-	-	-	Glucose
-	-	-	-	-	-	-	-	Galactose
-	-	-	-	-	-	-	-	Arabinose
-	-	-	-	-	-	-	-	Xylose

55	54	51	50	44	43	40	39	N° des Souches
-	-	-	-	-	-	-	-	Lévulose
-	-	-	-	-	-	-	-	Amidon
-	-	-	-	-	-	-	-	Lactose 1%
-	-	-	-	-	-	-	-	Lactose 10%
-	-	-	-	-	-	-	-	Maltose
-	-	-	-	-	-	-	-	Saccharose
-	-	-	-	-	-	-	-	Mannitol
-	-	-	-	-	-	-	-	Dulcitol
-	-	-	-	-	-	-	-	Glycerol
-	-	-	-	-	-	-	-	Indole
+	-	+	+	+	+	+	+	Nitrate
-	-	-	-	-	-	-	-	Gélatine
-	-	-	-	-	-	-	-	H2 S
-	+	-	+	+	-	-	-	Milieu à l'alcool
-	-	-	-	-	-	-	+	Milieu de Simmons
+	+	+	+	+	+	+	+	Catalase

55	54	51	50	44	43	40	39	N° des Souches
+	+	+	+	+	+	+	+	Oxydase
+	-	-	-	-	-	-	+	Uréase
-	-	-	-	-	-	-	-	L.D.C.
+	-	-	-	-	-	-	-	T.D.A.
+	-	+	+	-	-	-	-	Lipase
-	-	-	-	-	-	-	-	Hémolyse
I	S	S	R	S	S	I	R	Pénicilline 2 U
I	S	I	R	S	S	I	R	Pénicilline 10 U
R	S	S	R	S	S	S	R	Oxacilline
S	S	S	S	S	S	S	R	Chloramphénicol
S	S	S	S	S	S	R	S	Tétracycline
S	S	S	S	S	S	S	I	Streptomycine
S	S	S	R	S	S	S	S	Erythromycine
R	S	S	S	R	S	R	S	Sulfapyridine
R	S	S	S	S	S	S	R	Furadoïne

E T U D E D E S A. D. N.

SOUCHE N° : 39 M. Duplex var. non liquefaciens

ORIGINE : Faculté de Médecine de Montpellier

POURCENTAGE D'A. D. N. : 33 %

POIDS D' A. D. N. : 30 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	23,32	28,74	21,86	26,08	45,18	1,21
	22,14	28,52	21,78	27,56	43,92	1,27
	21,85	30,74	19,22	28,19	41,07	1,43
	23,57	28,15	21,61	26,67	45,18	1,21
Moyenne des bases	22,72	29,04	21,11	27,13		
Moyenne GC %					43,83	

SOUCHE N° : 40 M. Duplex var. non liquefaciens

ORIGINE : Institut Pasteur n° 5545

POURCENTAGE D' A. D. N. : 30 %

POIDS D' A. D. N. : 15 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	23,02	28,97	21,10	26,91	44,12	1,26
	22,91	29,15	20,64	27,30	43,55	1,29
	23,17	28,32	21,10	27,41	44,27	1,25
Moyenne des bases	23,03	28,81	20,95	27,21		
Moyenne GC %					43,98	

SOUCHE N° : 43 M. Duplex var. non liquefaciens

ORIGINE : Institut Pasteur n° A 166

POURCENTAGE d' A. D. N. : 26 %

POIDS d' A. D. N. : 46,9 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	24,77	34,25	19,58	21,40	44,35	1,25
	23,12	30,01	20,66	26,21	43,78	1,28
	22,98	28,32	20,98	27,72	43,96	1,27
Moyenne des bases	23,62	30,86	20,40	25,11		
Moyenne GC %					44,03	

SOUCHE N° 44 M. Duplex var. non liquefaciens

ORIGINE : Collection du laboratoire

POURCENTAGE D' A. D. N. : 25 %

POIDS D' A. D. N. : 12 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	23,56	29,22	20,72	26,50	44,28	1,25
	22,31	28,74	21,61	27,34	43,92	1,27
	23,15	29,35	21,16	26,34	44,31	1,25
Moyenne des bases	23,01	29,10	21,16	26,73		
Moyenne GC %					44,17	

SOUCHE N° 50 M. Lacunata

ORIGINE : Centre International de Distribution de Souches et d'Informations sur les Types Microbiens Lausanne (LA 500)

POURCENTAGE D' A. D. N. : 30 %

POIDS d' A..D. N. : 20mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	22,56	28,99	21,19	27,26	43,75	1,28
	23,97	29,05	20,55	26,43	44,52	1,24
	23,06	28,58	20,85	27,51	43,91	1,27
Moyenne des bases	23,19	28,87	20,87	27,07		
Moyenne GC %					44,06	

SOUCHE N° 51 M. non liquefaciens

ORIGINE : Czechoslovak Collection Of Micro-organisms (N° 5604)

POURCENTAGE D' A. D. N. 25 %

POIDS d' A. D. N. 12 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	23,11	29,52	19,90	27,47	43,01	1,32
	23,95	28,97	20,22	26,86	44,17	1,26
	24,02	27,45	20,65	27,88	44,67	1,24
Moyenne des bases	23,69	28,64	20,26	27,41		
Moyenne GC %					43,95	

SOUCHE N° 54 M. Osloensis

ORIGINE : Institut Pasteur n° 6814

POURCENTAGE D' A. D. N. : 28 %

POIDS D' A. D. N. : 12 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	23,32	29,22	20,70	26,76	44,02	1,27
	22,84	27,78	20,30	29,08	43,14	1,31
	22,65	29,94	19,52	27,89	42,17	1,37
Moyenne des bases	22,93	28,98	20,17	27,91		
Moyenne GC %					43,11	

SOUCHE N° 55 M. Phenylpyrouvica

ORIGINE : Institut Pasteur n° 6816

POURCENTAGE D' A. D. N. : 60 %

POIDS d' A. D. N. : 2 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	21,18	27,56	22,40	28,86	43,58	1,29
	20,90	28,05	22,15	28,83	43,12	1,31
	20,84	28,53	21,34	29,29	42,18	1,37
Moyenne des bases	20,97	28,04	21,99	29,00		
Moyenne GC %					42,96	

DESCRIPTION DES CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

DES 8 SOUCHES ETIQUETEES COMME :

Moraxella duplex non liquefaciens)	
Moraxella non liquefaciens (	
Moraxella osloensis)	Groupe C
Moraxella phénylpyrouvica (	
Moraxella lacunata (n° 50))	

MILIEUX D' ISOLEMENT ET DE CULTURE

Les souches de ces différentes espèces présentent toutes une croissance facile sur les milieux de culture usuels ; elles se rapprochent donc, de ce fait, des Moraxella glucidolytica et lwoffi et constituent dans cette étude le groupe C .

Cependant la culture sur le milieu à alcool n'est pas constamment observée (3 souches positives sur 8). D'ailleurs la souche n°50 étiquetée Moraxella lacunata se multiplie particulièrement sur ce milieu ce qui l'exclue d'emblée du groupe lacunata (il s'agit en fait d'une souche de Moraxella duplex non liquefaciens).

MORPHOLOGIE

Elle est identique à celle précédemment décrite. Les microorganismes s'associent généralement en diplobacilles courts ce qui les distingue nettement du genre Neisseria.

ASPECT DES CULTURES

En gélose ordinaire les colonies sont hémisphériques à bords nets, généralement translucides. Le diamètre atteint 1 à 2 mm en 24 heures à 37 ° C.

En milieu liquide la culture est rapide avec formation d'un dépôt floconneux.

.../...

PHYSIOLOGIE

Ce sont des aérobies stricts. La température optimale de croissance se situe entre 33° C et 37° C. Elles cultivent toutes à 42° C y compris les souches de Moraxella osloensis et de Moraxella phenylpyrouvica.

ACTION SUR LES GLUCIDES

Par leur inactivité glucidolytique sur les milieux 1 et 2 ces souches se distinguent nettement de celles des précédents groupes.

ACTION SUR LES PROTEINES

Aucune des souches étudiées ne liquéfie la gélatine ni le serum coagulé. Ce caractère" non protéolytique" paraît primordial il peut sembler légitime de donner à ce groupe C la dénomination de Moraxella duplex non liquefaciens.

A l'exception de la souche Moraxella osloensis la réduction des nitrates en nitrites est positive.

On ne constate jamais la production d'hydrogène sulfuré.

ACTION ENZYMATIQUE

Toutes ces souches sont catalase positive et oxydase positive (ce qui les différencie des groupes A et B), lysine décarboxylase négative et ne présentent aucune activité hémolytique.

Par contre, Moraxella phénylpyrouvica se singularise par la présence d'une desaminase active sur la phenylalanine et le tryptophane (ce qui est un cas unique chez les Moraxella). Cette espèce présente par ailleurs une activité uréasique très importante, activité assez fréquemment observée chez les souches de Moraxella du groupe A et B. Par ailleurs le GC % de Moraxella phenylpyrouvica est voisin de celui de Moraxella lwoffi (groupe B2).

L'activité lipasique est variable selon les souches.

.../...

ACTION DES ANTIBIOTIQUES

L'étude de la sensibilité des souches de ce groupe vis à vis des antibiotiques apporte des éléments utiles pour l'individualiser et pour étayer l'hypothèse d'un rapprochement de ce groupe (oxydase positive) avec les Moraxella oxydase négative. En effet la majorité des souches montre une sensibilité aux divers antibiotiques mais une proportion non négligeable est résistante (en particulier Moraxella phénylpyrouvica est intermédiaire à la pénicilline et résistante à l'oxacilline) voir tableau (XI).

ETUDE DU GC %

L'étude de la composition en bases de l'A.D.N. et la détermination du GC % sont reportées dans le tableau (VIII).

Le GC % de l'espèce type est de : $43,87 \pm 0,34$

Sur 7 résultats expérimentaux 6 souches répondent à la valeur vraie, calculée par la déviation standard et l'écart de la moyenne.

Un seul résultat celui de la souche n°54, s'écarte de cette valeur puisque son GC % est de 43,11.

Ces valeurs élevées individualisent ce groupe parmi les Moraxella oxydase positive. Rapellons que le GC % de Moraxella phénylpyrouvica (42,96) rapproche cette espèce du groupe B2 des Moraxella lwoffi.

Cette uniformité génotypique remarquable est aussi sous tendue par une uniformité phénotypique. D'ailleurs Moraxella phénylpyrouvica dont le GC % est inférieur présente un phénotype tout à fait caractéristique alors que Moraxella osloensis est indistinguable des Moraxella duplex non liquefaciens tant du point de vue génotypique que phenotypique.

- 0 -

TABLEAU N° VIII

INTERPRETATION STATISTIQUES DES RESULTATS DU GROUPE C

N°	X	$(X-\bar{x})$	$(X-\bar{x})^2$	N°	X	$(X-\bar{x})$	$(X-\bar{x})^2$
39	43,83	0,04	0,0016				
40	43,98	0,11	0,0121				
43	44,03	0,16	0,0256				
44	44,17	0,30	0,0900				
51	43,95	0,08	0,0064				
50	44,06	0,18	0,0361				
54	43,11	0,76	0,5776				

TOTAL $(X-\bar{x})^2 = 0,5776$ Nombre de mesures = 7

Moyenne arithmétique $\bar{x} = 43,87$

Ecart type $s = \sqrt{\frac{\sum (X-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0,5776}{6}} = 0,35$

Ecart type de la moyenne arthmétique :

$$s' = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0,35}{2,65} = 0,13$$

Rapport $\epsilon/s = 2,6$

$$43,87 - 0,34 \leqslant \text{Valeur vraie} \leqslant 43,87 + 0,34$$

G R O U P E D

C A R A C T E R E S B A C T E R I O L O G I Q U E S

56	53	52	49	48	47	46	45	42	41	N° des Souches
V	-	-	-	-	V	-	V	V	-	Gram
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Mobilité
-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	Capsule
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pouvoir gazogène
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Odeur
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	Type respiratoire
7°	37°	33-37	33-37	33-37	33-37	33-37	33-37	33-37	33-37	Température optimale de croissance
-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Culture à 42° C
	-	+ (alc)	-	-	-	-	-	+ (alc)	+ (alc)	Hugh et Leifson
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Rouge de Méthyle
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Voges Proskauer
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Mannose
	x	-	-	-	-	-	-	-	-	Glucose
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Galactose
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Arabinose
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Xylose

X Ces sucres ne sont utilisés que sur milieu cystine tryptic case + ascite

53	52	49	48	47	46	45	42	41	N° des Souches
-	-	-	-	-	-	-	-	-	Levulose
-	- -	-	-	-	-	-	-	-	Amidon
-	-	-	-	-	-	-	-	-	Lactose 1%
-	-	-	-	-	-	-	-	-	Lactose 10%
x	-	-	-	-	-	-	-	-	Maltose
-	-	-	-	-	-	-	-	-	Saccharose
-	-	-	-	-	-	-	-	-	Mannitol
-	-	-	-	-	-	-	-	-	Dulcitol
-	-	-	-	-	-	-	-	-	Glycerol
-	-	-	-	-	-	-	-	-	Indole
-	-	+	+	+	-	+	-	+	Nitrate
-	+	-	-	-	+	-	+	+	Gélatine
-	-	-	-	-	-	-	-	-	H2 S
-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu à l'alcool
-	-	-	-	-	-	-	-	-	Milieu de Simmons
-	+	+	+	+	+	+	+	+	Catalase

X : ces souches ne sont utilisés que sur milieu cystine-trypticase + azote

6	53	52	49	48	47	46	45	42	41	N° des Souches
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Oxydase
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Uréase
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L.D.C.
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T.D.A.
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Lipase
	+	-	-	-	-	+	-	+	+	Hémolyse
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Pénicilline 2 U
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Pénicilline 10 U
S	S	S	R	I	S	S	I	R	S	Oxacilline
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Chloramphénicol
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Tétracycline
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Streptomycine
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	Erythromycine
S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	Sulfapyridine
S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	Furadoïne

E T U D E D E S A. D. N.

SOUCHE N° 41 M. Duplex var. non liquefaciens

ORIGINE : Institut Pasteur n° 5413

POURCENTAGE D' A. D. N. : 15 %

POIDS D' A. D. N. : 20 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	26,02	28,68	18,65	26,65	44,67	1,24
	24,59	31,15	18,24	26,02	42,83	1,33
Moyenne des bases	25,30	29,91	18,44	26,33		
Moyenne GC %					43,75	

SOUCHE N° 42 M. Duplex var. bovis

ORIGINE : Institut Pasteur n°649

POURCENTAGE D' A. D. N. : 25 %

POIDS D' A. D. N. : 9 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	22,33	31,77	19,98	25,92	42,31	1,36
	20,92	32,22	21,05	25,81	41,97	1,38
	21,78	30,14	20,76	27,32	42,54	1,35
	22,02	30,93	20,05	27,00	42,07	1,37
Moyenne des bases	21,76	31,26	20,46	26,52		
Moyenne GC %					42,22	

SOUCHE N° 45 M. Lacunata var. atypica

ORIGINE : Institut Pasteur n° 5958

POURCENTAGE D' A. D. N. : 48 %

POIDS D' A. D. N. : 5,4 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	21,04	29,07	20,20	29,69	41,24	1,42
	22,49	30,01	20,22	27,28	42,71	1,34
	22,60	28,69	21,05	27,66	43,65	1,27
Moyenne des bases	22,04	29,25	20,49	28,21		
Moyenne GC %					42,53	

SOUCHE N° 46 M. Lacunata var. typica

ORIGINE : Institut Pasteur n° 5493

POURCENTAGE D' A. D. N. : 20 %

POIDS D' A. D. N. : 43 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	21,33	30,15	19,49	29,03	40,82	1,44
	21,77	29,92	21,16	27,15	42,93	1,32
	24,65	30,92	18,03	26,40	42,68	1,34
	22,71	30,70	18,69	27,90	41,40	1,41
	22,13	28,92	19,09	29,86	41,22	1,42
Moyenne des bases	22,51	30,12	19,29	28,06		
Moyenne GC %					41,81	

SOUCHE N° 47 M. Lacunata var. typica

ORIGINE : Institut Pasteur (A 182)

POURCENTAGE D' A. D. N. : 23 %

POIDS D' A. D. N. : 12 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	23,32	29,52	19,69	27,47	43,01	1,32
	22,17	30,12	19,65	28,06	41,82	1,41
	21,83	30,46	19,91	27,80	41,74	1,39
Moyenne des bases	22,44	30,03	19,75	27,78		
Moyenne GC %					42,19	

SOUCHE N° 48 M. Lacunata var. atypica

ORIGINE : Institut Pasteur n° 5735

POURCENTAGE D' A. D. N. : 96 %

POIDS D' A. D. N. : 8,4 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	22,80	27,21	20,11	29,88	42,91	1,33
	22,03	31,31	19,56	27,07	41,62	1,40
Moyenne des bases	22,43	29,29	19,83	28,47		
Moyenne GC %					42,26	

SOUCHE N° 49 M. Lacunata var. atypica

ORIGINE : Institut Pasteur n ° 5868

POURCENTAGE D' A. D. N. : 35 %

POIDS D' A. D. N. : 4,8 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	24,11	28,95	21,32	25,62	45,43	1,20
	23,63	28,97	20,90	26,48	44,55	1,24
	23,56	28,93	21,94	25,57	45,50	1,19
Moyenne des bases	23,72	26,94	21,52	25,83		
Moyenne GC %					45,24	

SOUCHE N° 52 M. liquefaciens

ORIGINE : The Welcome Bacteriel Collection Beckenham (England)

POURCENTAGE D' A. D. N. : 35 %

POIDS D' A. D. N. : 8 mg.

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	22,08	26,71	21,48	27,93	43,56	1,29
	21,64	29,01	21,34	28,01	42,98	1,32
	22,34	28,71	20,84	28,11	43,18	1,31
Moyenne des bases	22,02	28,74	21,22	28,02		
Moyenne GC %					43,24	

SOUCHE N° 53 Moraxella kingii

ORIGINE : Bacteriologiske Institutt Rikshospitalet Kjell Bøvre OSLO N° 2941

POURCENTAGE D' A. D. N. : 40 %

POIDS D' A. D. N. : 8 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	23,13	27,55	20,65	28,67	43,78	1,28
	23,75	28,16	21,07	27,02	44,82	1,23
	23,86	27,37	20,95	27,82	44,81	1,23
Moyenne des bases	23,58	27,69	20,89	27,83		
Moyenne GC %					44,47	

SOUCHE N° 56 M. Kingii

ORIGINE : Bacteriogiske Institutt Rikshospitalet Kjell Bøvre OSLO (espèce type)

POURCENTAGE D' A. D. N. : 30 %

POIDS d' A. D. N. : 10 mg

	GUANINE	ADENINE	CYTOSINE	THYMINE	GC %	$\frac{A + T}{G + C}$
	23,32	28,74	21,13	26,81	44,45	1,25
	23,01	28,51	20,96	27,52	43,97	1,27
Moyenne des bases	23,16	28,62	21,04	27,16		
Moyenne GC %					44,21	

DESCRIPTION DES CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

DES 9 SOUCHES ETIQUETEES COMME :

Moraxella duplex liquefaciens)
Moraxella liquefaciens (
Moraxella duplex variété bovis) Groupe D (D1 et D2)
Moraxella lacunata typica (
Moraxella lacunata atypica)
Moraxella Kingii (

MILIEUX D'ISOLEMENT ET LE CULTURE

Avec Moraxella lacunata espèce type de ce groupe nous abordons l'étude des Moraxella à culture difficile. Mais seule Moraxella lacunata est vraiement serophile bien que certains auteurs, en particulier LWOFF (34 bis), aient montré que la présence de serum (ou d'acide oléique) inhibait des substances toxiques présentes dans les milieux de culture.

Tous les degrés de sérophilie seront retrouvés pour les espèces de ce groupe, ainsi Moraxella duplex liquefaciens cultive sans addition de serum mais le rendement est largement augmenté si on l'ajoute au milieu. Par contre, Moraxella Kingii exige la présence de sang frais de cheval, ce caractère distingue Moraxella Kingii de Moraxella lacunata.

En résumé toutes les souches du groupe D exigent vraisemblablement un certain nombre de facteurs de croissance non identiques qui sont apportés par le serum, l'ascite ou le sang. Le caractère classique de sérophilie par trop imprécis devrait céder le pas à la notion d'exigence en facteurs de croissance ou en facteurs stimulants.

MORPHOLOGIE

Comme pour les autres Moraxella le polymorphisme demeure le caractère dominant et rien ne permet de distinguer, par exemple, Moraxella lacunata de Moraxella glucidolytica.

.../...

ASPECT DES CULTURES

Par contre la taille des colonies est très réduite :
- 0,1 mm à 0,5 mm de Ø pour Moraxella Kingii
- 0,5 mm à 1 mm de Ø pour Moraxella lacunata
- environ 1 mm de Ø pour Moraxella duplex liquefaciens

L'aspect en est également très caractéristique , colonies en gouttes de rosée translucides pouvant être confondues soit avec des colonies de streptocoques α ou β hémolytiques, soit avec des colonies d'hémophilus.

En milieu liquide les cultures ne sont possibles qu'en milieux très riches (milieux tryptose ou VL additionnés de serum ou d'ascite) et donnent en général un trouble homogène.

PHYSIOLOGIE

Ce sont des aérobies stricts. La température optimale de croissance demeure entre 33° C et 37° C, mais elles ne cultivent généralement pas à 42° C (excepté une souche Moraxella duplex liquefaciens n° 41 et une souche Moraxella duplex bovis n°42).

ACTION SUR LES GLUCIDES

La non utilisation des hydrates de carbone (à l'exception de Moraxella Kingii qui utilise le glucose et le maltose mais uniquement sur un milieu cystine - trypticase - ascite) rapproche les souches du groupe C et D.

L'activité glucidolytique ainsi que l'absence paradoxale de catalase pourrait expliquer la valeur vraie élevée du GC % des souches de Moraxella Kingii.

ACTION SUR LES PROTEINES

L'activité protéolytique des variétés liquefaciens est très caractéristique dans son aspect sur serum coagulé : petites cupules de liquefaction (lacunata typica) liquefaction plus étendue (duplex liquefaciens).

La réduction des nitrates en nitrites n'est pas constamment observée (par exemple Moraxella duplex bovis n°42 et Moraxella lacunata typica n° 46 sont négatives). Ces espèces "nitrate négative" du groupe D ainsi que les variétés "nitrate négative" du groupe C ne peuvent cependant être rapprochées d'Acinetobacter anitratus (groupe A). Par conséquent ce caractère ne saurait servir de critère de définition des groupes C et D d'ailleurs pour ces groupes les résultats obtenus par différents auteurs sont contradictoires. C'est ainsi que pour Beer la réduction des nitrates en nitrites est un caractère variable, pour Ballard au contraire toutes les souches étudiées réduisent les nitrates en nitrites, alors que pour De Bord aucune souche ne possède cette propriété.

La production d'hydrogène sulfuré demeure négative pour l'ensemble des souches.

ACTION ENZYMATIQUE

Toutes les souches sont oxydase et catalase positives (excepté Moraxella Kingii catalase négative). L'activité lipasique est positive pour les souches de Moraxella duplex variété liquefaciens ainsi que pour leur variété bovis, par contre, constamment négative pour l'espèce type Moraxella lacunata et ses variétés ainsi que pour Moraxella Kingii. Cette propriété semble individualiser au moins deux sous-groupes .

Toutes les autres activités enzymatiques sont négatives.

ACTION DES ANTIBIOTIQUES

L'antibiotype des souches du groupe D montre une remarquable sensibilité à tous les antibiotiques étudiés. Voir tableau (XI).

ETUDE DU GC %

L'étude de la composition en bases de l'A.D.N. et la détermination du GC% sont reportées dans les tableaux (IX -X).

La méthode de comparaison des similitudes de Sneath (XII) permet d'obtenir un diagramme où les valeurs GC % de chaque souche sont comparées deux à deux. Il permet de mettre en évidence comme nous l'avons précedemment signalé deux sous-groupes D1 et D2 le premier (D1) avec une valeur moyenne de 42,19 $\pm$ 0,13 qui correspond justement aux souches de Moraxella lacunata lipase négative, le second (D2) avec une valeur moyenne de 43,07 $\pm$ 1,85 qui correspond quant à lui aux souches de Moraxella duplex liquefaciens lipase négative.

Ainsi que nous l'avons déjà envisagé Moraxella Kingii, bien qu'ayant certaines affinités phénotypiques avec ces groupes, présente une valeur moyenne du GC % = 44,34.

- 0 -

TABLEAU N° IX

INTERPRETATION STATISTIQUE DES RESULTATS DU GROUPE D1

N°	X	$(X-\bar{x})$	$(X-\bar{x})^2$
45	42,53	0,34	0,1156
46	41,81	0,38	0,1444
47	42,19	0,00	0,0000
48,	42,26	0,07	0,0049

TOTAL $(X-\bar{x})^2 = 0,2649$ Nombre de mesures = 4

Moyenne arithmétique $\bar{x} = 42,19$

Ecart type $s = \sqrt{\frac{\Sigma(X-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0,2649}{3}} = 0,08$

Ecart type de la moyenne arithmétique :

$$s' = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0,08}{2} = 0,04$$

Rapport $\varepsilon/s = 3,2$

$$42,19 - 0,13 \leqslant \text{Valeur vraie} \leqslant 42,19 + 0,13$$

TABLEAU N° X

INTERPRETATION STATISTIQUE DES RESULTATS DU GROUPE D2

N°	X	$(X-\bar{x})$	$(X-\bar{x})^2$
41	43,75	0,68	0,4624
42	42,22	0,79	0,6241
52	43,24	0,17	0,0289

TOTAL $(X-\bar{x})^2 = 1,1154$ Nombre de mesures = 3

Moyenne arithmétique $\bar{x} = 43,07$

Ecart type $s = \sqrt{\frac{\Sigma (X-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{1,1154}{2}} = 0,75$

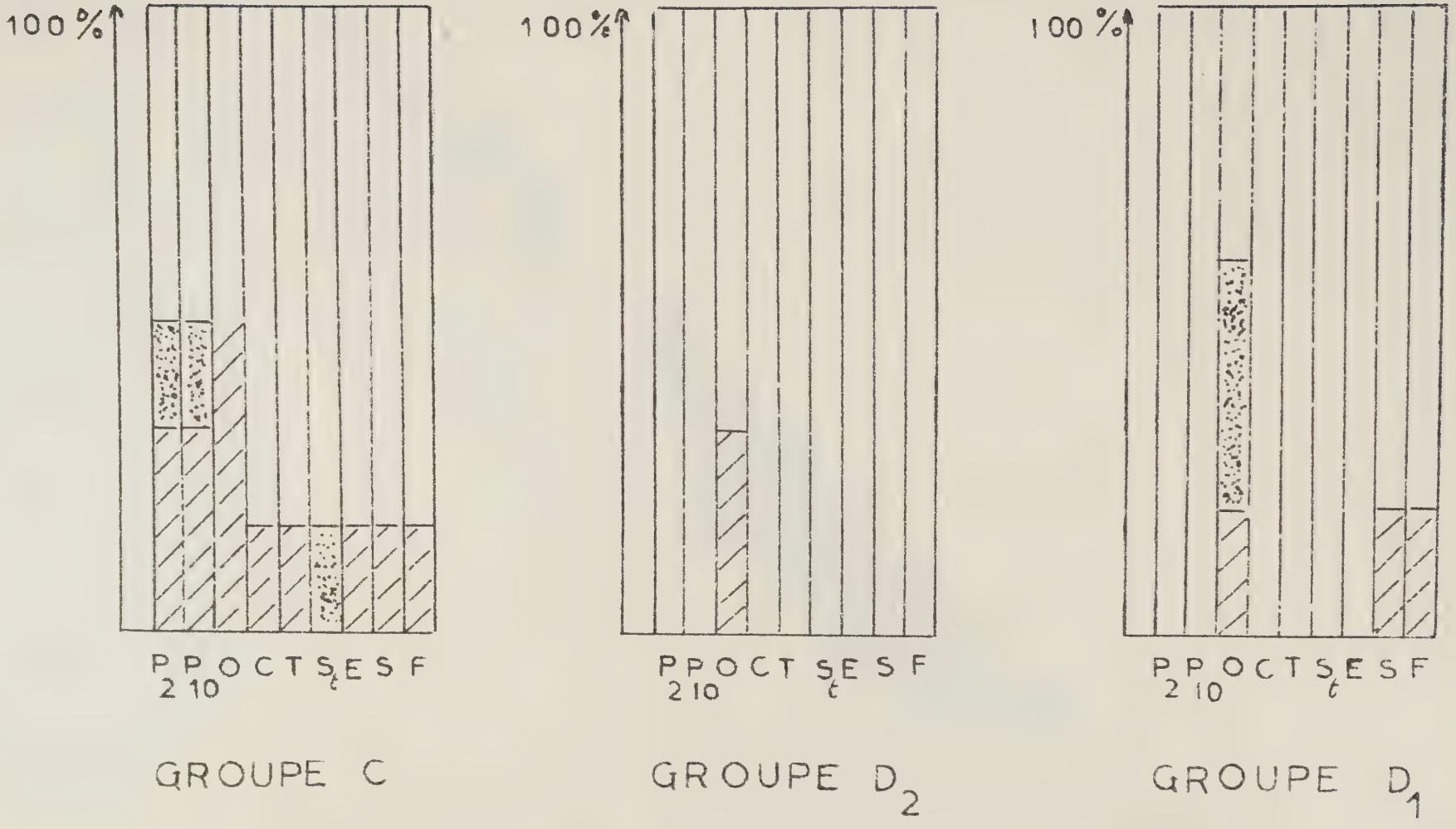
Ecart type de la moyenne arithmétique :

$$s' = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0,75}{1,73} = 0,43$$

Rapport $\varepsilon/s = 4,3$

$$43,07 - 1,85 \leqslant \text{Valeur vraie} \leqslant 43,07 + 1,85$$

SENSIBLE INTERMEDIAIRE RESISTANT



- TABLEAU XI - ANTIBIOTYPE -

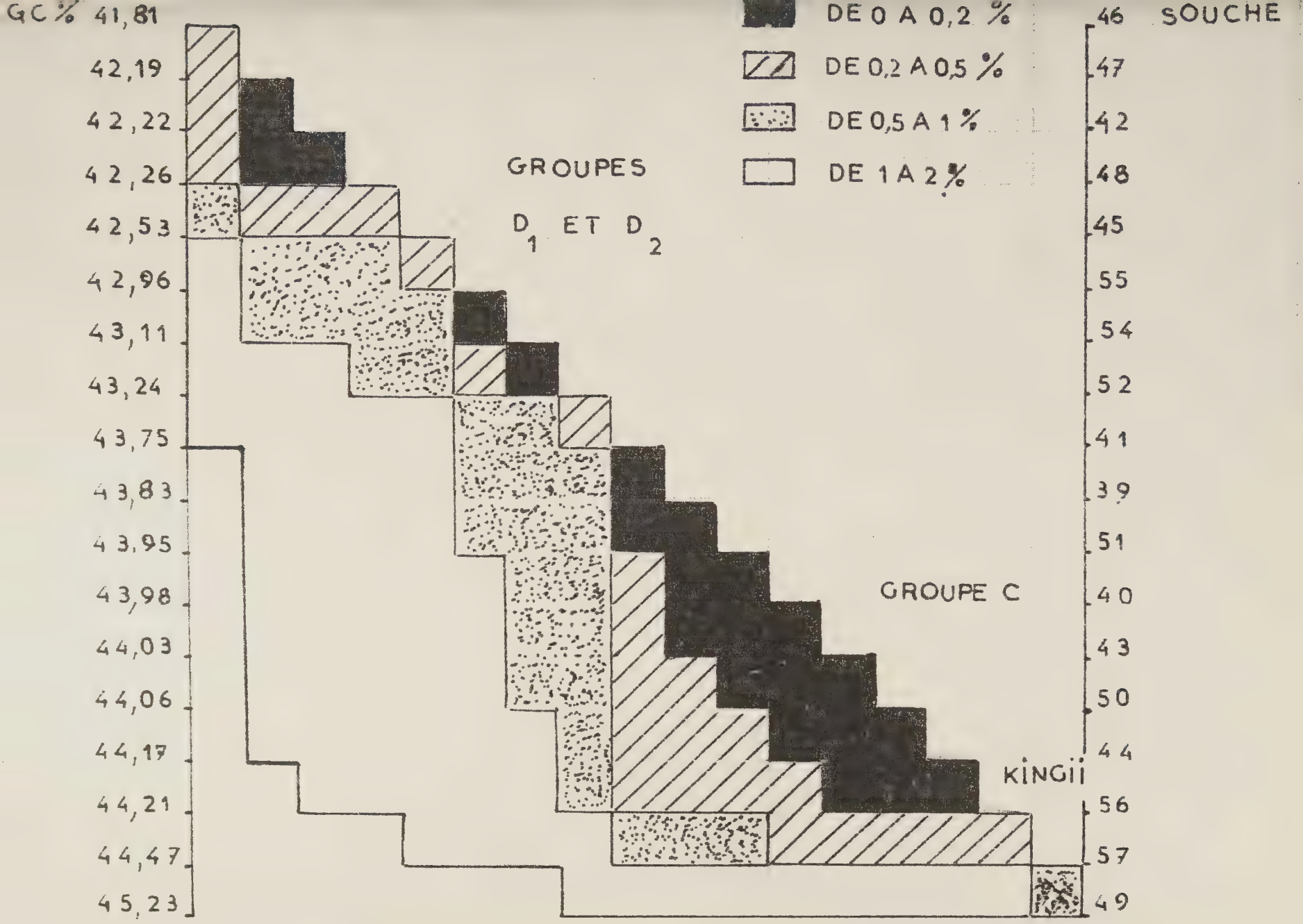

GC %
41,81
42,19
42,22
42,26
42,53
42,96
43,11
43,24
43,75
43,83
43,95
43,98
44,03
44,06
44,17
44,21
44,47
45,23
DE 0 A 0,2 %
DE 0,2 A 0,5 %
DE 0,5 A 1 %
DE 1 A 2 %
GROUPES
D1 ET D2
GROUPE C
KINGII
SOUCHE
46
47
42
48
45
55
54
52
41
39
51
40
43
50
44
56
57
49

TABLEAU XII

I V - C O N C L U S I O N

Toutes les bactéries envisagées au cours de cette étude forment un groupe homogène phénotypiquement et génotypiquement.

Sur le plan phénotypique :

- la morphologie est un caractère essentiel : il s'agit toujours de diplobacilles très polymorphes, à Gram variable, immobiles par absence de fkagelles mais douées cependant de mouvements de glissement. Enfin, comme l/a démontré PIECHAUD, la structure nucléaire de ces microorganismes est identique et rapproche Moraxella lwoffi et glucidolytica des autres Moraxella.

- l'aérobiose stricte et la présence d'une catalase (à l'exception de Moraxella Kingii).

Sur le plan génotypique :

On constate un étalement très réduit dans les valeurs du GC % (de 38,68 à 45,24).

Il est néammoins classique de diviser ces bactéries en deux groupes basés sur la présence ou non d'une oxydase :

Groupe I oxydase positive ; les bactéries de ce groupe sont actuellement nommées Moraxella

Groupe II oxydase négative ; la terminologie variant selon les auteurs : Moraxella, Acinetobacter, Achromobacter, Mima, Herellea, pour ne citer que les termes les plus fréquemment utilisés.

Une extraordinaire confusion semble donc régner sur la terminologie de ce groupe qui par ailleurs est subdivisé en deux sous-groupes :

.../...

- les glucidolytiques comprenant :
  Diplococcus mucosus (Von Lingenshein)
  Bacterium anitratum (Schaub et Hauber)
  B5W (Stuart)
  Herellea vaginicola (De Bord)
  Moraxella glucidolytica (Piechaud)
  Achromobacter anitratum
  Acinetobacter anitratum (Brisou) etc...

- les non glucidolytiques correspondant à la description de Moraxella lwoffi et de Mima polymorpha de De Bord et qui, pour certains auteurs, se rapprocheraient des Alcaligenes immobiles.

Il semble difficile d'éclairer cette nomenclature confuse mais il est certain que des espèces identiques ont été décrites sous des noms divers par différents auteurs. C'est ainsi que Diplococcus mucosus identique à Bacterium anitratum a été appelé Neisseria mucosa par Veron - Thibault - Second (56). Or il est incontestable que la morphologie de ces germes ainsi que leur caractère oxydase négative les éloigne définitivement du genre Neisseria.

D'autre part B5W et Herellea vaginicola ont été assimilé à Bacterium anitratum par Ewin - Ferguson et Roberts, par Piechaud ainsi que par Henriksen et Brisou.

Le terme de Bactérium anitratum lui-même ne peut être que temporaire puisque le genre Bacterium groupe des microorganismes incerteae-sedis.

On pourrait donc envisager de classer Bacterium anitratum soit parmi les Achromobacter, les Acinetobacter ou les Moraxella.

Or, si les Achromobacter groupent des bactéries Gram négatives, mobiles en général par des cils pôlaires, aérobies facultatives, à croissance aisée sur les milieux usuels, les Bacterium anitratum présentent un Gram variable,

.../...

sont aérobies stricts et toujours immobiles. De plus les Achromobacter appartiennent à la famille des Pseudomonadaceae et pour les Pseudomonas l'étalement du GC % se situe entre 60 % et 67 %.

Quant au genre Acinobacter de Brisou et Prévot (Pseudomonaceae incolore et immobile) ils ne correspondent en rien à la définition bactériologique de Bacterium anitratum d'autant plus que la plupart des espèces décrites dans ce genre (Stenohalis - Butyri - Metalcaligenes) sont anaérobies facultatives.

Tous les caractères bactériologiques cardinaux de Bacterium anitratum : morphologie, activité enzymatique, antibiotype ainsi que les valeurs du GC % sont identiques à ceux des souches de Moraxella glucidolytica (GC % 39,17 à 39,22).

En ce qui concerne les non-glucidolytiques Mima polymorpha a été identifiée par Ewin, Piechaud et Second à Moraxella lwoffi. Quant à l'appellation d'Alcaligenes donnée à Moraxella lwoffi elle est bien évidemment à rejeter ; le genre Alcaligenes groupant des bactéries Gram négative, mobiles, dont le GC % de l'espèce type (Alcaligenes foecalis) varie de 54 % à 56 %.

Il semble donc tout à fait logique d'inclure les souches du groupe 2 dans le genre Moraxella comme l'ont d'ailleurs proposé : De Bord qui le premier a rapproché au sein des Mima polymorpha des Moraxella oxydase positive et oxydase négative, et Audureau qui inclut Moraxella lwoffi variété brevis et bacteroïdes dans les Moraxella vraies.

Bien que les travaux d'Henriksen aient montré qu'il ne semblait pas y avoir de possibilité de transformation entre les Moraxella oxydase positive (groupe I) et oxydase négative (groupe II) il nous semble que les valeurs du GC %

réunissent l'ensemble de ces microorganismes :

groupe I GC % moyen = 42,97
groupe II GC % moyen = 40,75

La diférence existante ne paraît pas suffisante pour donner à chacun de ces deux groupes une terminologie différente. De nombreux exemples montrent en effet qu'au sein d'un même genre l'étalement du GC % peut être supérieur à celui que nous avons observé : exemples

Pseudomonas : 60 % à 67 %

Corynebacterium : 48 % à 58 %

Vibrio : A3 % à 51 %

Néammoins il semble bien exister chez les Moraxella une différence dans l'adaptation des espèces à des biotopes caractéristiques : c'est ainsi que les Moraxella osloensis, duplex, lacunata ne se rencontrent jamais dans la nature et paraissent avoir évolué vers un parasitisme plus ou moins strict alors que les Moraxella lwoffi et glucidolytica ont une écologie qui les rapproche des Achromobacter et des Pseudomonas puisqu'on les rencontre également dans l'eau et dans le sol.

La position taxonomique des Moraxella est évidemment très difficile à préciser : comme le constataient Murray et Truant (37 bis) "S'il est facile de dire à quel groupe n'appartiennent pas les Moraxella il devient très difficile de savoir à quel groupe les rattacher".

Cependant les variations de la nomenclature de ces microorganismes pourraient apporter une indication ; ils ont été rapprochés d'une part de Neisseria (Neisseria mucosa, Neisseria winogradsky) et d'autre part des bacilles à Gram négatif de la famille des Pseudomonaceae dont par ailleurs les rapprochent les GC % extrêmes. Il semble donc possible

.../...

d'envisager les Moraxella comme un groupe intermédiaire entre les cocci Gram négatif et les bacilles Cram négatif. Cette conception de la classification et de la phylogénie des Moraxella est résumée dans les tableaux (XIII - XIV).

- 0 -

CLASSIFICATION DES MORAXELLA

DIPIOBACILLES IMMOBILES, A GRAM VARIABLE, AEROBIES STRICTS, NON FERMENTAIRES

GROUPE I

- Oxydase +
- N'utilisent jamais les glucides comme seules sources de carbone

GROUPE D — Croissance difficile

- D1 Exigence en F. de croissance lipase -
  - Sang → *M. KINGII*
  - cat. sero phile → *M. LACUNATA*
- D2 Exigence en F. stimulants lipase + → *M. DUPLEX* (liquefaciens)

GROUPE C — Croissance facile

- TDA - → *M. DUPLEX NON LIQUEFACIENS* (osloensis)
- TDA + → *M. PHENYLPYROUVICA*

GROUPE II

- Oxydase -
- Utilisent généralement les glucides comme seules sources de carbone
- Cultive en milieu synthétique de base à l'alcool
- Ne réduisent jamais les NO_3^- en NO_2^-
- Résistent à la pénicilline

GROUPE B

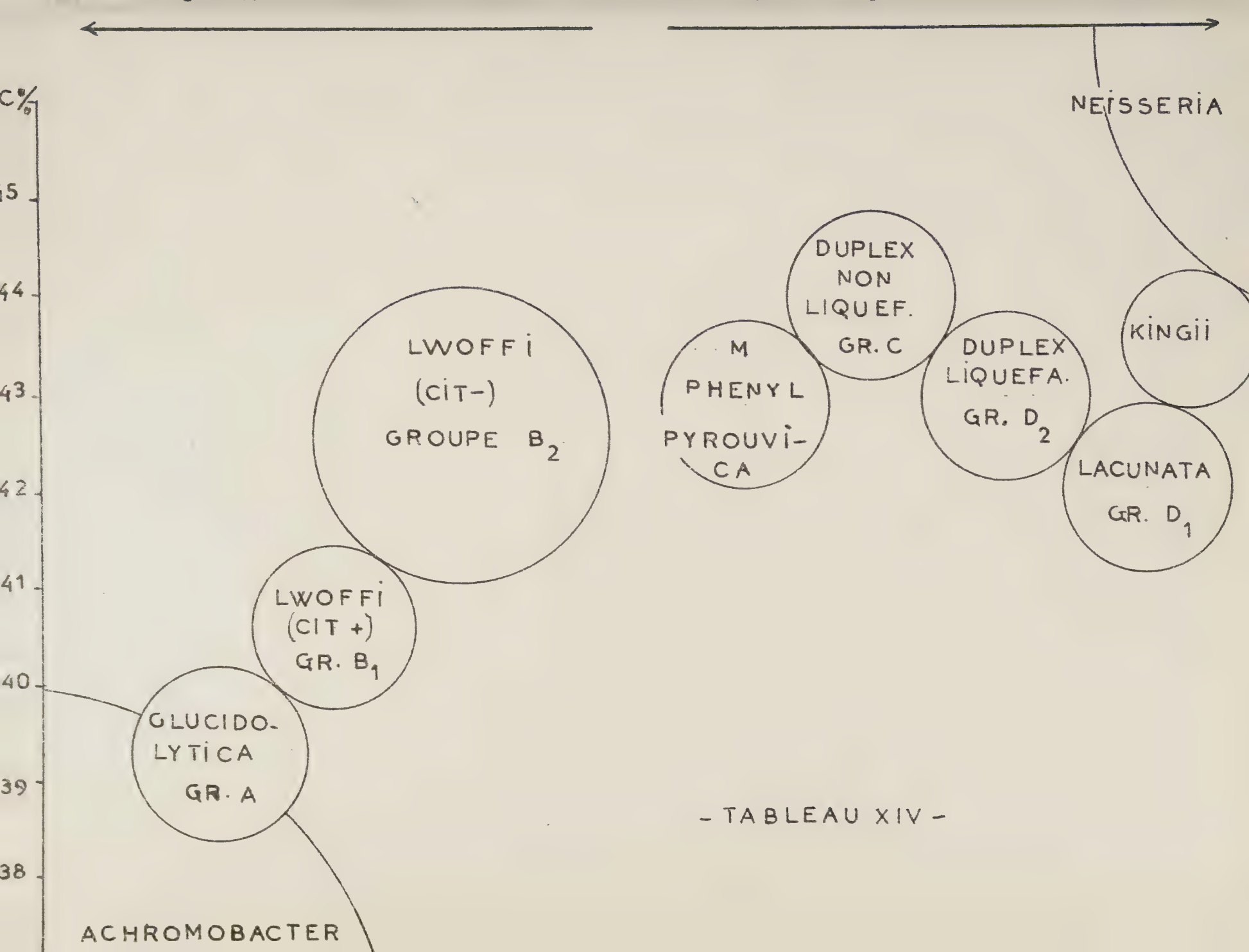
- Ne produisent jamais d'acide à partir du glucose (milieu 1)
- N'utilise pas le maltose comme seule source de C. (milieu 2)

- B1 citrate + → *M. LWOFFI* v. citroalcaligenes
- B2 citrate - → *M. LWOFFI*

GROUPE A

- Production d'acide à partir du glucose (milieu 1) → *M. GLUCIDOLYTICA*
- Culture à 42 ° C (100 %)
- Production de lipase (100 %)
- Utilise le maltose comme seule source de C. (milieu 2)

TABLEAU XIII


C%
45
44
43
42
41
40
39
38
LWOFFI
(CIT-)
GROUPE B2
LWOFFI
(CIT +)
GR. B1
GLUCIDO-
LYTICA
GR. A
ACHROMOBACTER
M
PHENYL
PYROUVI-
CA
DUPLEX
NON
LIQUEF.
GR. C
DUPLEX
LIQUEFA.
GR. D2
LACUNATA
GR. D1
KINGII
NEISSERIA

- TABLEAU XIV -

V - B I B L I O G R A P H I E

B I B L I O G R A P H I E

1 - ALEXANDER H. E. and REDMAN W. - Transformation of type specificity of meningococci J. EXPT. MED. - 1953 97 : 797 - 806

2 - AUDUREAU. A. - Etude du genre Moraxella Ann. Inst. Past. 1940 · 64 : 126 - 166

3 - AXENFELD T. - Uber die Chronische diplobacillen conjonctivitis Centr. Bakteriol Parasitkde I. Ab. - 1897 21 : 1 - 9

3 bis - BELOZERSKY A. N. - Report on the International Symposium "The Origin of Life on the Earth" Moscou 1957

4 - BERGEY'S - Manual of Determinative Bacteriology Seventh edition London Baillien Tindale & Cox Ltd 1957

5 - BOUISSET L. BREUILLAUD J. MICHEL G. - Etude de l'A.D.N. chez des Actinomycetales Ann. Inst. Past. - 1963 104 : 756 - 770

6 - BOUISSET L. BREUILLAUD J. MICHEL G. - Bases nucléiques des bactéries - Application au genre Actinobacterium Ann. Inst. Past. - 1968 115 : 1063 - 1081

6 bis - BOURLAT R. - Thèse Médecine Bordeaux 1953

7 - BÖVRE K. & HENRIKSEN S.D. - An approach to transformation studie in Moraxella Acta. Pathol. Scand. - 1962 56 : 223 - 228

8 - BÖVRE K. - Affinities between Moraxella spp and a strain of Neisseria catarrhalis as expression by transformation - Acta. Pathol. Microbiol. Acand. - 1964 58 : 528 - 529

9 - BÖVRE K. & HENRIKSEN S. D. - A new Moraxella species Moraxella osloensis and a revised description of Moraxella non liquefaciens Inter. J. System. Bacteriol. - 1967 17 : 127 - 135

10 - BÖVRE K. & HENRIKSEN S.D. - A revised description of Moraxella polymorpha Flamm. With a proposal of a new name Moraxella phenylpyrouvica for this species Journal International de Bactériologie Systématique - 1957 Vol. 17 n° 4 Oct. 67 p. 343 - 360

11 - BÖVRE K. - Studies on tranformation in Moraxella and organisms assumed to be related to Moraxella 8 The relative position of some oxydase negative immobile diplobacilli (Achromobacter) in the transformation system Acta. Pathol. Microbiol. Scand. 1967 69 : 109 - 122

12 - BÖVRE K. & HENRIKSEN S.D. - Moraxella Kingii sp. nov., a Hoemolytic Saccharolytic Species of the genus Moraxella J. Gen. Microbiol. - 1968 51 : 377 - 385

.../...

13 - BRISOU J. & PREVOT A.R. - Révision des espèces réunies dans le genre Achromobacter - Ann. Inst. Past. 1954.86 : 722 - 728

14 - BROADHURST J. BUCHANAM R.E. KRUMWEIDE C. ROGERS L.A. & SMITH G.H. - The families and the genera of the bacteria J. Bacteriol. - 1917 2 : 505 - 566

15 - CATLIN B.W. CUNNINGHAM L.S. - Transforming activities and base contents of desoxyribonucleate preparation from various Neisseria J. Gen. Microbiol. 1961 26 : 303 - 312

16 - CATLIN B.W. CUNNINGHAMS L.S. - Genetic transformation of Neisseria catarrahlis by desoxyribonucleate preparation having different average base composition J. Gen. Microbiol. 1964 37 : 341 - 352

17 - CATLIN B.W. CUNNINGHAM L.S. - Transforming activities and base composition of desoxyribonucleate from strains of Moraxella and Mima - 1964 37 : 353 - 367

18 - CHARGAFF E. - Acad. Press New York - 1955 I 307 - 372

18 bis - COURTIEU A.L. CHASSIGNOL S. LONGERAY C. - Caractères bacteriologiques de 214 souches de Moraxella Lwoffi et de M. glucidolytica (Acinetobacter) Ann. Inst. Past. Supp. au n° 6 - Juin 1961 : 116 - 122

19 - COWAN S.T. - Unusual infection following cerebral operations with a description of diplococcus mucosus (VON LINGELSHEIM) Lancet 1938 2 : 1052 - 1054

20 - DEACON W.E. - A note on the tribe Mimeae (DE BORD) J. Bac. 1945 49 : 511 - 512

21 - DE BORD G. Iowa State Collection - Description of Mimeae Trib. nov with genera and species and two nov species of Neisseria from conjonctivitis and vaginitis J. Sci 1942 16 : 471 480

22 - DISCHE Microchemie - 1930 : 8 - 4

23 - EWING WH. - The relation ship of. Bacterium anitratum and members of the tribe Mimeae (DE BORD) J. Bact. 1949 57 : 659

24 - EYRE J.W. - A clinical and bacteriological study of diplo-bacillary conjonctivitis J. Pathol. Bacteriol. 1899 6 : 1 - 13

25 - FERGUSON W.W. & ROBERT L.F. - A bacteriological and serological study of organism B5W (Bacterium anitratum) J. Bact. 1950 59 : 171 - 183

26 - FLAMM H. - Eine Weitere neue species das genus Moraxella : Moraxella M. polymorpha sp. n. zentr. bakt. I Abt. Orig. 1957 168 : 261 - 267

27 - GASSER F. SEBALD M. - Composition en bases nucléiques des bactéries du genre Lactobacillus Ann. Inst.Past. - 1966 110. 2. 261 - 275

28 - HENRIKSEN S.D. - Moraxella classification and Taxonomy J. Gen. Microbiol. 1952 6 : 318 - 328

29 - JONES F.S. & LITTLE R. B. - An infections ophtalmia of cattle J. Exprl. Med. 1923 38 : 139 - 148

30 - KI YONG LEE, WAHL R., BARBU E. Ann. Inst. Past. 1956 91 : 212 - 224

31 - LAUTROP H. - Bacterium anitratum transferred to the genus cytophaga Intern. Bull. Bacteriol. Noman. Taxon. 1961 11 : 107 - 108

32 - LAUTROP H. - Gliding motility in bacteria as a taxonomie criterium Spisy Prirodovedecke Fak. Univer. Brne Ser K 1965 35 - 465 322 - 327

33 - VON LINGELSHEIM W. - Bieträge zur Atiologie der epidemischen Genickstarre nach den Ergebnissen der letzten jahre Z. Hyg. Infektionskr 1908 59 : 457 - 483

34 - LWOFF A. - Revision et démenbrement des Hemophiae, le genre Moraxella nov. gen. Ann. Inst. Past. 1939 62 : 169 - 176

34 bis - LWOFF A. - Sur le rôle du serum dans le développement de Moraxella lacunata et de Neisseria gonorrhoeae Ann. Inst. Past. 1947 73 : 735

35 - MARSHAK & VOGEL J. Biol. Chim. 1951 189 : 597 - 615

36 - MICHEL G. - Etude sur le genre Corynebacterium - Thèse de Doctorat en pharmacie (diplôme d'Etat) Toulouse Nov. 1961

37 - MORAX V. - Notes sur un diplobacille pathogène dans la conjonctivite humaine Ann. Inst. Past. 1896 10 : 337 - 345

37 bis - MURRAY R.G.E. & TRUANT J.P. - The morphology, cell structure, and Taxonomic affinities of the Moraxella J. Bac. 1954 67 : 13 - 22

38 - PETTIT P. - Recherches cliniques et bactériologiques sur les infections aigües de la cornée Thèse Faculté de Médecine Paris Steinheil (Ed.) - 1900

39 - PIECHAUD D. PIECHAUD M. SECOND L. - Etudes de 26 souches Moraxella lwoffi Ann. Inst. Past. 1951 80 : 97 - 99

40 - PIECHAUD D. PIECHAUD M. SECOND L. - Variétés proteolytiques de M. lwoffi et M. glucidolytica (Bact. anitratum) Ann. Inst. Past. 1956 90 : 517 - 522

41 - PIECHAUD M. - Le groupe Moraxella. A propos des B5W et Bacterium anitratum Ann. Inst. Past. 1961 100 : 74 - 85

42 - PIECHAUD M. - Mobilité chez les Moraxella Ann. Inst. Past. 1963 104 : 291 - 297

43 - PREVOT A.R. - Traité de systématique bacterienne Dunod Ed. Paris 1961

43 bis - RYTER A. & PIECHAUD M. - Etude au microscope électronique de quelques souches de Moraxella Ann. Inst. Past. Dec. 1963 6 : 1071 - 1079

44 - SCARLET M. - Infections cornéennes à diplobacilles. Notes sur deux diplobacilles non encore décrits. Ann. Oculist, 1916 153 : 100 - 107

45 - SCHAUB I.G. & HAUBER F.D. - A biochemical and serological study of a group of identical unidentifiable gram - negative bacilli from human sources J. Bac. 1948 56 : 379 - 385

46 - SEBALD M. - Etude sur les bactéries anaérobies gram-négatives,asporulées. Thèse de Sciences Paris 1962

47 - SEBALD M. & VERON - Teneurs en bases de l'A.D.N. et classification des vibrions Ann. Inst. Past. 1963 105. 5. : 897 - 910

48 - SEBALD M. GASSER F. WERNER H. - Teneurs GC % et classification. Applications au groupe des bifidobacteries et à quelques genres voisins Ann. Inst. Past. 1965 109.2. : 251 - 269

49 - SEELIGER H. - Zur systematik das Bacterium anitratum (Schaub and Hauber) Zbl. Bakt. (Orig.) 1953 159 : 173 - 176

49 bis - SIERRA G. - A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol. 1957 23 : 15 -22

50 - SMITH J.D. & WYATT J.R. Bioch. I. 1951 49 : 144 - 148

50 bis - SNEATH P.M.A. J. Gen. Microbiol. 1957 17 : 184 - 201

51 - STEEL K.J. COWAN S.T. - Le rattachement de Bacterium anitratum, Moraxella lwoffi Bacillus mallei et Hoemophilus parapertussis au genre Acinetobacter Ann. Inst. Past. Mars 1964 : 481 - 483

52 - STUART C.A. FORMAL D. & MAC GANN V. - Further studies of B5W an anaerogenic group in the Enterobacteriaceae J. Inf. Dis. 1949 84 : 235 - 239

.../...

53 - SZYBALSKI W. - Methods in Enzymology vol. XIII Nucleic Acids Part E

53 bis - TOPLEY & WILSON'S - Principles of bacteriology and immunity vol. I Edward Arnold (publishers) Ltd.

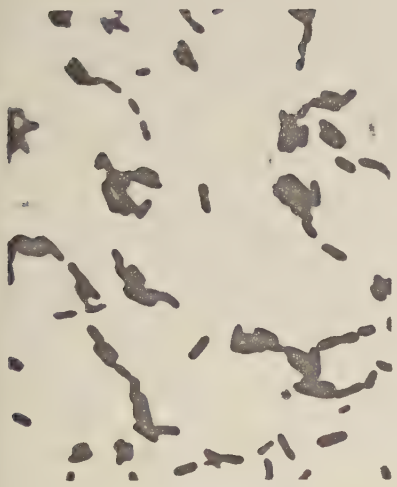
54 - VENDRELY Ann. Inst. Past. 1958 94 : 142

55 - VERON M. - Taxonomie numérique et classification des bactéries B. I. P. Tome 67 n°12 Décembre 1969

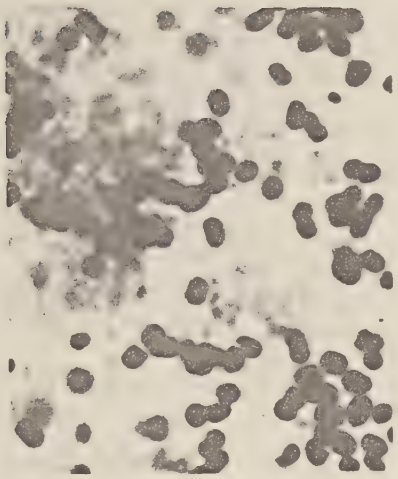
56 - VERON M. THIBAULT P. SECOND L. - Neisseria mucosa (Diplococcus mucosus LINGELSHEIM) Description bactériologique et étude du pouvoir pathogène Ann. Inst. Past. 1959 97 : 497 - 510

57 - VELLECOURT P. & JACOBELLI G. - Bactéries pathogènes ou saprophytes transformant le glucose en acide gluconique (B. anitratum, B5W, M. lwoffi var. glucidolytica, Neisseria winogradsky) Ann. Inst. Past. 1954 86 : 493 - 502

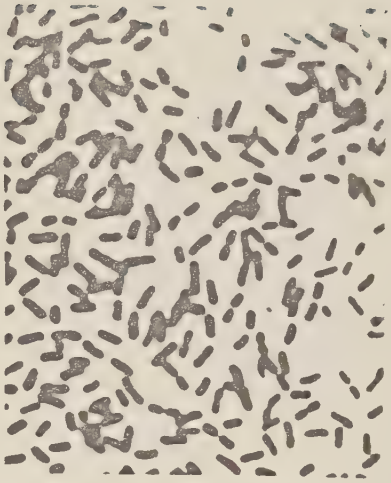
58 - WYATT G.R. Biochem. J. 1951 48 : 584 - 590



M. kingii
N° 53

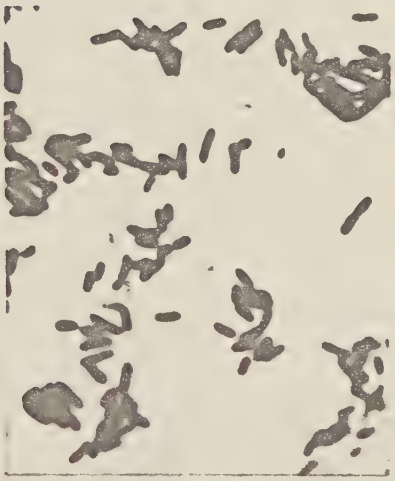


M. phénylpyrouvica
N° 55



M. osloensis
N° 54

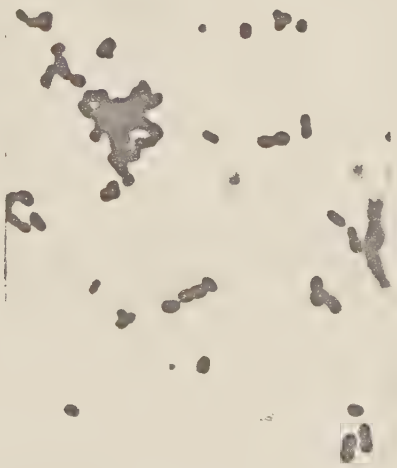
M. glucidolytica
N° 3



M. glucidolytica
N° 7

M. glucidolytica
N° 10

M. lwoffi
N° 18



M. lwoffi
N° 17

M. lwoffi
N° 24

TABLE DES MATIERES

- INTRODUCTION p. 7
- HISTORIQUE p. 11
- A.D.N. ET SPECIFICITE TAXONOMIQUE p. 27
- TRAVAUX PERSONNELS p. 31
    - Techniques bactériologiques p. 32
    - Teneur en bases puriques et pyrimidiques de l'A.D.N. p. 41
    - Etude du Groupe A p. 50 Bis
    - Etude du Groupe B p. 77
    - Etude du Groupe C p.116
    - Etude du Groupe D p.134
- CONCLUSION p.156
- BIBLIOGRAPHIE p.164

Vu : le Président du Jury

Pr. J. BREUILLAUD

Vu et permis d'imprimer,

Toulouse, le 11 Septembre 1970

Le Doyen,

Président du Conseil Transitoire de gestion

G. LAZORTHES